

EXPERIENTIA



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:

R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Lausanne Bern Zürich Genève-Pasadena

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10

SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

Vol. VIII. — Fasc. 4

15. IV. 1952

Fr. 3.—

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

- M. HAÏSSINSKY: Etudes électrochimiques par la méthode des indicateurs radioactifs (électrolyses en solution extrêmement diluée) 125
C. BARIGOZZI: La struttura microscopica del nucleo durante il riposo 133

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

- J. O. FLECKENSTEIN: Les théorèmes de Laplace sur les perturbations séculaires dans les éléments vectoriels des orbites planétaires. 136
M. BLUMER und I. M. KOLTHOFF: Das polarographische Verhalten von Ti(III) und Ti(IV) in Äthylendiamintetraacetat 138
B. FREDRICSSON: A Modification of the Histochemical Method for Demonstration of Alkaline Phosphatase in which the Diffusion Phenomenon is reduced 139
E. C. GROB et F. VON BEUST: Sur la présence de pigments jaunes non caroténoïdes chez *Mucor hiemalis* 139
W. H. SCHOPFER et E. C. GROB: Sur la biosynthèse du β -carotène par *Phycomyces* cultivé sur un milieu contenant de l'acétate de sodium comme unique source de carbone . . . 140
T. WIKÉN und H. SOMM: Atmungsversuche mit submersen Schüttelmyzel des Wurzelpilzes *Mycelium Radicis atroviensis* in der Apparatur nach von Euler, Myrbäck und Nilsson . . 140
V. CAPRARO und J. FRANCESCHINI: Die Wirkung des Adrenalins über den Wassertransport durch die Haut von *Rana esculenta* 142
D. ELSON und E. CHARGAFF: On the Desoxyribonucleic Acid Content of Sea Urchin Gametes 143
F. KRADOLFER, B. SCHÄR und R. MEIER: Zur Frage der Begleitstoffe in gonadotropen Hormonpräparaten 145
A. LOCKER und H. SIEDEK: Über Aktivierung von Cholinesterasen durch Alkylphosphate *in vivo* 146
J. LEURQUIN et J. P. DELVILLE: Mise en évidence et estimation de la Catalase sanguine 148
F. MLCZCH und H. VINAZZER: Die Beeinflussung der Thrombin-Fibrinogen-Reaktion durch Penicillin, Streptomycin und Aureomycin 150
V. ERSPAMER und A. OTTOLENGHI: Antidiuretic Action of Small Doses of Enteramine Extracts in the Rat 152
E. HUSEMANN, E. G. HOFFMANN, R. LÖTTERLE und M. WIEDERSHEIM: Über die Ausscheidung und Speicherung von radioaktiv indizierten Xylanschwefelsäureestern 153
H. GRANADOS: The Occurrence of an Abnormal Black Pigment in the Incisors of Albino Rats Reared on Certain Purified Diets 154
T. EDLUND und A. LOHI: Are Ba-ions a Pure Muscular Stimulant on the Rat's Ileum but not on the Guinea Pig's? The Species Difference in Spasmolytic Potency of Some Ganglionic Blocking Agents 156
B. ANDERSSON: Polydipsia Caused by Intrahypothalamic Injections of Hypertonic NaCl-Solutions. 157
P. WÄSER und W. HUNZINGER: Methode zur Beurteilung der Koronardurchblutung 158

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

- Handbuch der Laplace-Transformation, Bd. I. Von Gustav Doetsch (Verlag Birkhäuser AG., Basel 1950) (Ref. G. Köthe) 160
Die zweidimensionale Laplace-Transformation. Von Dietrich Voelker und Gustav Doetsch (Verlag Birkhäuser AG., Basel 1950) (Ref. G. Köthe) 160
Erweckung der Steine. Von Heinrich Küpper (Druck und Verlag der Österreichischen Staatsdruckerei Wien, 1951) (Ref. W. Nabholz) 160
Struktur und Eigenschaften der Kristalle. Von Helmut G. F. Winkler (Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1950) (Ref. T. Hügi) 161
Chemismus und Konstitution, I. Teil. Von Bernd Eistert (Verlag Ferdinand Enke, Stuttgart 1948) (Ref. H. Schenkel) . . . 161
Kartothek der Thiazolverbindungen. Von Bernhard Prijs (Verlag S. Karger AG., Basel 1951) (Ref. J. Metzger) 162
Kolorimetrie und Spektralphotometrie. Von Gustav Kortüm (Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1948) (Ref. F. Hitzig) 162
Introduction to Radiochemistry. By Gerhart Friedlander and Joseph W. Kennedy (John Wiley & Sons, Inc., New York and Chapman & Hall, Ltd., London 1949) (Ref. W. Hälgl) . 163
Biophysical Research Methods. Prepared by a group of specialists under the editorship of Fred M. Usher (Interscience Publishers Inc., New York and London, 1950) (Ref. K. Bernhard) 163
Experimental Immunochemistry. By Elvin A. Kabat and Manfred M. Mayer (Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Ill., 1948) (Ref. O. Westphal) 163
Apples and Apple Products. By R. M. Smock and A. M. Neubert (Interscience Publishers Inc., New York and London 1950) (Ref. M. Staub) 164

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

- Praemia - Societates - Congressus - Corrigendum 164

EXPERIENTIA



L'EXPERIENTIA publia:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications*;
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées*.

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienenen *Bücher*, durch Referate über *Kongresse und Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

EXPER.

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 3.—. Abonnement pour un an fr. 28.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 34.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.

Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant. Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à part de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.

Prix pour les annonces: $\frac{1}{2}$ page fr. 220.—, $\frac{1}{4}$ page fr. 132.—, $\frac{1}{8}$ page fr. 77.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.

L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhäuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15
Tél. 49800; adresse télégraphique: Edita Bâle

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Portugal, Schweden und Tschechoslowakei nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.

Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 28.—, im Ausland sFr. 34.—; die Einzelnummer kostet Fr. 3.—.

Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschließlich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluss 35 Tage vor Erscheinungstermin, d.h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.

Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 x 21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.

Insertionspreise: $\frac{1}{2}$ Seite Fr. 220.—, $\frac{1}{4}$ Seite Fr. 132.—, $\frac{1}{8}$ Seite Fr. 77.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.

Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15
Tél. 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi*, in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni*;
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni*, come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports*;
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings*, as well as through other communications.

EXPERIENTIA esce a 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 3.—. L'abbonamento annuo è di fr. 28.— per la Svizzera; all'estero fr. 34.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.

La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.

Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 x 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.

Prezzi per annunci: $\frac{1}{2}$ pag. fr. 220.—, $\frac{1}{4}$ pag. fr. 132.—, $\frac{1}{8}$ pag. fr. 77.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.

EXPERIENTIA si stampa in Svizzera.

Casa editrice Birkhäuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15
Tel. 49800; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 3.—, by annual subscription by inland-mail fr. 28.—; other countries fr. 34.—. Prices in Swiss currency. All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10th of the preceding month.

The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 x 21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.

Prices for advertising: $\frac{1}{2}$ page fr. 220.—, $\frac{1}{4}$ page fr. 132.—, $\frac{1}{8}$ page fr. 77.—. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15
Phone 49800; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

Verzeichnis der Inserenten - Liste des annonceurs - List of Advertisers - Experientia VIII/4

Sandoz AG., Basel
Verlag Birkhäuser AG., Basel

Steiner & Co., Basel
CIBA AG., Basel

Ganz & Co., Zürich
Salvis AG., Luzern



Diese Mappe hat den Zweck, die Hefte des laufenden Jahrganges zusammenzuhalten, bevor der komplette Jahrgang gebunden werden kann. Die einzelnen Hefte können mittels einer neuartigen patentierten Haltevorrichtung in die Mappe eingheftet und im Bedarfsfall wieder herausgelöst werden. Mit dieser geschmackvoll in Kunstleder gebundenen Mappe soll dem Übelstand abgeholfen werden, daß einzelne Hefte im Laufe des Jahres verloren gehen und vor dem Einbinden nachbezogen werden müssen. Die Sammelmappe ist so massiv konstruiert, daß sie ihren Dienst auf Jahre hinaus leisten wird.

Preis in Kunstleder gebunden: Fr. 6.75

BESTELLSCHEIN

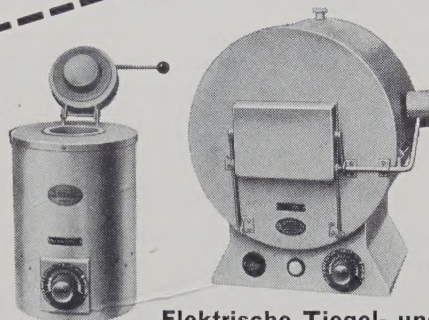
An den VERLAG BIRKHÄUSER AG., BASEL 10 (Schweiz)
Ich bestelle... Sammelmappe(n) zum Preise von Fr. 6.75

Name: _____ Vorname: _____

Ort: _____ Straße: _____

Bitte in Blockschrift schreiben

Elektrische Wärmegeräte für Laboratorien



Elektrische Tiegel- und
Muffelöfen

Salvis

SALVIS AG. Luzern-Emmenbrücke
Fabrik elektrischer Apparate
Telefon (041) 2 6116 / 2 6117

MUBA-Stand 1289, Halle V

Cliches
STEINER+CO BASEL

SCHÜTZENMATTSTRASSE 31 TELEPHON 49910/19

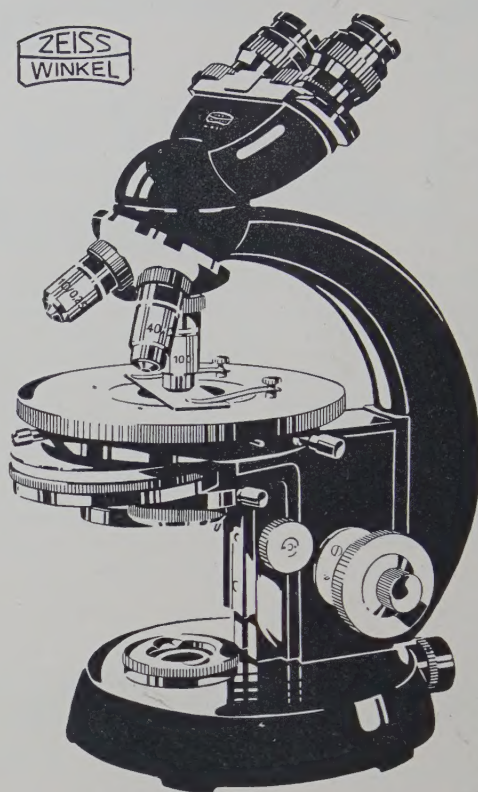
NEUES **ZEISS-WINKEL** STANDARD-MIKROSKOP GF 524

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

- Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie
- Tiefliegende, coaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung
- Neuartiger Gleittisch (Fettfraktion)
- Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive
- Vergrößerungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)
- Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor
- Neue Achromate und Neofluare

Auskunft und Vorführung durch die
Generalvertretung für die Schweiz :

GANZ & Co
Bahnhofstraße 40
Tel. (051) 23 97 73 *Zürich*



VERGLEICHENDE PHYSIOLOGIE · BAND IV

HORMONE

VON W. VON BUDDENBROCK

Professor an der Universität Mainz

492 Seiten mit 115 Abbildungen und vielen Tafeln. In Ganzleinenband Fr. 49.40, broschiert Fr. 45.25

Auf kaum einem anderen Gebiet wird es so nützlich und interessant sein, die Physiologie nicht vom Standpunkt des Mediziners, sondern von dem viel weiteren Standpunkt des Zoologen dargestellt zu sehen. Wer die ungeheure Literatur über Hormone auch nur einigermassen übersieht, wird mit Bewunderung feststellen, wie gut es dem Autor gelungen ist, die wichtigsten Punkte hervorzuheben und Nebensächliches wegzulassen. Besonders willkommen ist eine Darstellung der in den Handbüchern der Endokrinologie heute noch meist fehlenden hormonartigen Stoffe bei Wirbellosen.

(Wiener klinische Wochenschrift)

Band I: Sinnesphysiologie und Band II: Nervenphysiologie erscheinen 1952.

Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL

Etudes électrochimiques par la méthode des indicateurs radioactifs (électrolyses en solution extrêmement diluée)

Par M. HAÏSSINSKY¹, Paris

Il est bien connu que les indicateurs radioactifs ont trouvé de nombreuses et fécondes applications dans les recherches physico-chimiques et biologiques les plus variées. Grâce à l'extrême sensibilité de la méthode et surtout à sa spécificité, elle donne souvent la solution, directe et sans ambiguïté, à des problèmes dont l'étude par d'autres techniques ne conduit qu'à des résultats incertains et hypothétiques. Il en est ainsi dans le domaine électrochimique qui constitue l'objet de cet exposé. L'utilisation des indicateurs permet ici d'examiner d'une façon saisissante le comportement des ions en solution extrêmement diluée et la cinétique de formation des tout premiers germes d'un dépôt métallique ou d'un oxyde sur une électrode.

Les processus électrolytiques conduisant à la formation de tels dépôts, insuffisants ou à peine suffisants pour constituer une couche monoatomique (ou processus à l'échelle des indicateurs radioactifs), ont certains points communs avec les phénomènes d'adsorption des gaz sous faible pression. Dans l'un et l'autre cas l'étude des équilibres de répartition du composé examiné entre les phases et de la cinétique des réactions permettent de conclure sur le mécanisme de formation de ces couches et sur la structure des supports (électrodes, adsorbants). Les phénomènes électrochimiques sont cependant bien plus complexes par suite de l'intervention de charges électriques apportées non seulement par le composé électrolyté mais aussi par d'autres ions présents, et éventuellement par le solvant. Le comportement des gaz gagne en simplicité avec la raréfaction en s'approchant de celui des gaz parfaits, tandis que dans l'électrolyse, les espèces étrangères peuvent jouer un rôle de plus en plus important à mesure que la dilution augmente.

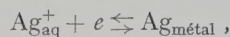
Il est utile d'indiquer dès maintenant que dans le cas de dépôts électrolytiques, le terme «couche monoatomique» n'a pas un sens bien précis; il évoque en effet l'image d'un dépôt uniformément distribué, tandis que l'hétérogénéité de la surface peut, comme nous le verrons, conduire à un dépôt préférentiel en certains points ou sur certaines «plages». Pour calculer, d'autre part, la quantité de dépôt correspondant à une couche monoatomique, on se base sur les dimensions apparentes de la surface. On sait cependant que la surface réelle des solides est le plus souvent plusieurs fois supérieure à

l'aire géométrique (voir par exemple BOWDEN et RIDEAL¹ et FRANKENBURG²). Enfin, il est peu probable qu'une surface couverte d'une seule couche monoatomique perde les propriétés du support et acquière celles d'un dépôt macroscopique. C'est pour ces raisons que nous précisons que les considérations qui vont suivre se rapportent aux couches monoatomiques *formelles*, c'est-à-dire calculées d'après la surface géométrique apparente. Dans les conditions électrolytiques habituelles aux laboratoires, c'est-à-dire en opérant avec 5 à 10 ml de solution et une électrode de 1 à 2 cm² et pour un dépôt métallique de poids atomique moyen, la solution doit avoir une concentration de 10⁻⁶ à 10⁻⁷ M, pour que le dépôt complet corresponde approximativement à une telle couche «monoatomique».

Le potentiel E , qu'on mesure par rapport à une électrode de référence, d'un métal au contact de ses propres ions en solution est donné, comme on le sait, par l'équation classique de NERNST:

$$E = E_0 + \frac{RT}{zF} \ln a. \quad (1)$$

a est l'activité thermodynamique des ions (assimilable à la concentration en solution diluée), E_0 est le potentiel pour $a = 1$, z est la valence des ions, R , T et F ont leurs significations habituelles. Cette relation se vérifie lorsque le potentiel correspond à un processus se produisant *réversiblement* à l'électrode, par exemple:



et que la solution n'est pas trop diluée. Mais si on plonge une lame ou un fil d'argent dans une solution très faiblement acide de AgNO₃ 10⁻¹² N, on ne peut pas s'attendre à ce que le potentiel soit encore celui qu'on calcule à l'aide de l'équation en supposant même que la lame ne soit pas attaquée. Les ions provenant du solvant et à fortiori ceux de l'acide sont ici en un tel excès que l'établissement du potentiel serait déterminé pratiquement par ces ions étrangers et non pas par la quantité infime des «potenzialbestimmenden Ionen».

Suivant SCHMID, VÖGELE et WINKELMANN³, les potentiels des électrodes Ag/Ag⁺, Cu/Cu⁺⁺ et Pb/Pb⁺⁺

¹ F. P. BOWDEN et E. K. RIDEAL, Proc. Roy. Soc. [A] 120, 80 (1928).

² W. G. FRANKENBURG, J. A. C. S. 66, 1827, 1838 (1944).

³ A. SCHMID, P. VÖGELE et W. WINKELMANN, Helv. chim. acta 15, 393 (1932).

¹ Institut du Radium, Faculté des Sciences, Paris.

s'écartent notablement des valeurs théoriques, lorsque la dilution dépasse 10^{-5} N, tandis que ANDAUER et LANGE estiment¹ que le potentiel de l'électrode Ag/Ag⁺ est donné par l'équation (1) encore à 10^{-8} N. En prenant des soins tout particuliers, MÜLLER et DÜRICHEN² ont obtenu le potentiel théorique de l'électrode Cd/Cd⁺⁺ encore à 10^{-7} N. Il semble ainsi que ces concentrations, 10^{-7} à 10^{-8} N, soient la limite extrême pour les mesures statiques de potentiels des électrodes.

Si ces mesures ne sont donc pas appropriées à l'étude énergétique des dépôts électrochimiques en solution extrêmement diluée, il n'en est pas de même pour les mesures cinétiques. Si, en effet, nous imposons un potentiel déterminé à un métal inerte plongeant dans une solution contenant les ions M^+ à l'échelle des indicateurs radioactifs, soit par un choix approprié de la composition ionique globale de la solution, soit à l'aide d'une force électromotrice extérieure, on peut supposer que la décharge des ions M^+ se produirait seulement, lorsque la variation d'énergie libre associée à ce processus serait égale ou inférieure à l'énergie qui correspond au potentiel imposé. En d'autres termes, si nous mesurons à l'aide d'un indicateur radioactif les quantités déposées aux divers potentiels, la courbe représentative accuserait une montée brusque correspondant à un *potentiel critique* du dépôt. De telles courbes particulières de polarisation seraient analogues aux courbes courant/tension en électrochimie ordinaire et elles auraient la forme des «ondes» polarographiques.

Ces considérations sont à la base de la méthode de HEVESY et PANETH³ destinée à mesurer les potentiels critiques des dépôts des radioéléments en solution très diluée. La méthode a été depuis appliquée par de nombreux auteurs à divers systèmes et il importe de bien préciser sa signification, car la compréhension correcte de celle-ci va nous fournir des renseignements très précieux sur le mécanisme du stade initial de la formation des dépôts électrolytiques et sur la structure des surfaces métalliques.

La question fondamentale qui se pose à ce propos est la suivante: *Quel est le rapport entre le potentiel critique mesuré dans les conditions indiquées et le potentiel thermodynamique mesuré statiquement pour le même processus macro-électrochimique?* On sait, par exemple, que le potentiel normal de l'électrode Bi/Bi⁺⁺⁺ est: $E_n = +0,226$ V; peut-on en conclure que le potentiel critique pour la décharge de ThC, isotope de Bi, à la concentration 10^{-12} N, sera

$$0,226 - \frac{0,058 \cdot 12}{3} = -0,006 \text{ V?}$$

¹ M. ANDAUER et E. LANGE, Z. phys. Chem. Bodenstein-Band, 247 (1931).

² F. MÜLLER et W. DÜRICHEN, Z. phys. Chem. [A] 182, 233 (1938).

³ G. V. HEVESY et F. PANETH, Wien. Ber. 123, 1618 (1914); Physik. Z. 15, 801 (1914). — F. PANETH et G. V. HEVESY, Wien. Ber. 122, 1037 (1913).

HEVESY et PANETH ont donné implicitement une réponse affirmative à cette question et ils ont vérifié leur conclusion par quelques mesures sur les isotopes de Pb et de Bi. HERZFELD¹, cependant, admit, en partant de considérations cinétiques élémentaires, que l'équation (1) doit être remplacée, pour des dépôts ne couvrant pas entièrement l'électrode, par une autre relation que nous pouvons écrire avec des notations modernes:

$$E = E_0 - \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_d}{a_0 - a_d} \quad (2)$$

a_0 est l'activité thermodynamique initiale des ions déposables en solution, a_s l'activité restante après l'achèvement du dépôt, $a_d = a_0 - a_s$ correspond à l'activité disparue de la solution par dépôt.

Cette équation signifie que:

1° Il n'y a pas un potentiel critique proprement dit, mais pour chaque potentiel une distribution d'équilibre entre les ions de la solution et les atomes déposés, équilibre qui croît en faveur du dépôt avec l'augmentation du potentiel appliqué². Ceci revient à affirmer que théoriquement la répartition d'une espèce moléculaire entre deux phases a toujours une valeur finie, à moins que le potentiel du système soit infini. En pratique, cependant, on peut non seulement discerner l'existence d'un potentiel critique (montée brusque du dépôt)³ mais celui-ci, comme nous le verrons, correspond très souvent, dans les limites des erreurs expérimentales, au potentiel calculé à l'aide de l'équation de NERNST.

2° L'équation (2) a la même forme que celle que HEYROVSKY et ILKOVIC⁴ ont établie pour les «ondes polarographiques», c'est-à-dire pour la variation, avec le potentiel, du courant électrolytique qu'on mesure avec une électrode à gouttes de mercure. Elle implique, en particulier, que le potentiel auquel la moitié des ions est déposée à l'électrode, qu'on pourrait appeler comme en polarographie *potentiel de demi-onde* $E_{1/2}$, est indépendant de la concentration initiale, toutes autres conditions étant égales. Nous verrons plus tard que cette conclusion le plus souvent n'est pas vérifiée.

3° L'équation ne faisant pas intervenir la nature de l'électrode, celle-ci serait sans influence sur l'équilibre de répartition et par conséquent sur la valeur de $E_{1/2}$ ou plus généralement sur la position de la courbe du dépôt. Cette remarque est d'ailleurs également valable

¹ K. HERZFELD, Physik. Z. 14, 29 (1913).

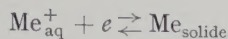
² Toutes les considérations qui suivent se rapportent aux conditions électrolytiques où le volume de la solution et la surface de l'électrode restent constants. L'effet de ces deux facteurs a été analysé par L. B. ROGERS et A. F. STEHNEY, J. Electrochem. Soc. 95, 25 (1949).

³ On trace habituellement le potentiel critique en prolongeant la tangente au point d'inflexion de la courbe jusqu'à l'axe des abscisses.

⁴ J. HEYROVSKY et D. ILKOVIC, Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 7, 198 (1935).

pour la détermination du potentiel critique à l'aide de l'équation (1).

C'est surtout cette dernière conclusion qui est surprenante. Comme le potentiel d'une électrode correspond à la variation d'énergie libre d'un processus tel que



il est difficile, en effet, d'admettre que l'affinité du support pour les atomes déposés (l'énergie libre d'adsorption) ne varie pas d'un métal à un autre.

J'ai montré ailleurs¹ que cette difficulté ne pouvait pas être éliminée par l'hypothèse de décharge «à distance»² qui avait été envisagée par HERZFELD et par d'autres électrochimistes³, et qu'on devait prendre en considération dans l'interprétation des résultats expérimentaux *l'hétérogénéité de la surface*, l'existence de centres actifs ou de «plages actives», préconisée par TAYLOR⁴ dans les phénomènes de la catalyse. On doit admettre notamment que pour un certain nombre de «centres» l'énergie d'adsorption des atomes déposés est très proche de l'énergie de cohésion de ceux-ci dans leur propre réseau (mesurée par la chaleur de sublimation). La variation d'énergie libre accompagnant la formation du micro-dépôt sur ces centres est alors approximativement la même que pour le macro-dépôt. Le potentiel critique serait, par conséquent, donné par l'équation (1). Lorsque ces centres sont saturés, de nouveaux apports successifs d'énergie seraient nécessaires pour décharger les ions sur d'autres points moins actifs de la surface. Lorsque l'énergie fournie est suffisante pour fixer les atomes sur toute la surface, la quantité déposable ne dépendrait plus du potentiel imposé et la vitesse du processus serait déterminée seulement par la vitesse de diffusion des ions vers l'électrode.

Nous employons le terme habituel «centres» sans adopter pour cela la conception ancienne, selon laquelle seuls les sommets et les arêtes sont actifs, ou, plus généralement, une très faible partie seulement de la surface. Le problème, en réalité, doit être traité statistiquement, ce qui revient à admettre que toute la surface présente une activité variable suivant une loi de répartition déterminée. Par conséquent, lorsque le dépôt se fait principalement sur une «plage» correspondant à un potentiel donné, un petit nombre d'atomes, déterminé par cette loi, se dépose aussi sur les autres parties de la surface, même si la plage en question n'est pas encore saturée (voir ⁵).

Il est difficile actuellement de se prononcer sur la nature des «centres actifs». Ceux-ci pourraient être d'origine chimique, physique ou mécanique, des défauts

de structure à l'échelle microscopique ou des déformations ou manifestations de désordre à une échelle encore inférieure.

Une étude importante de la question, en relation avec les phénomènes d'adsorption, a été faite par VOLKENSTEIN¹, lequel distingue le désordre thermique du désordre «historique».

Cette image, que nous essaierons de préciser plus loin à la lumière des expériences récentes, a permis d'expliquer l'origine de l'allure des courbes de dépôt et l'existence des quantités-limites déposables, postulées par l'équation (2) de HERZFELD. On en tire les conclusions suivantes:

1° Le potentiel critique peut varier avec la nature et la structure de l'électrode, le déplacement du potentiel pouvant se faire vers des valeurs tant positives (sous-tension) que négatives (surtension).

2° Les mêmes facteurs pourraient avoir une influence également sur l'allure détaillée des courbes potentiel-dépôt, notamment sur les quantités-limites, et sur les particularités cinétiques du dépôt.

3° La variation des quantités-limites avec la concentration devrait suivre les lois généralement valables pour l'adsorption sur des surfaces métalliques à structure hétérogène.

Sans nous arrêter sur les techniques et les méthodes utilisées dans ces expériences, il faut signaler que les mesures des potentiels critiques sont généralement réalisées selon l'un ou l'autre des procédés suivants: 1° Détermination de la *vitesse* du dépôt en fonction du potentiel, en se limitant à des durées d'électrolyse relativement courtes (courbes v/E); 2° Mesure des quantités maxima déposables pour divers potentiels (*équilibres* de répartition, courbes e/E). Il est évident que la seconde méthode, bien que beaucoup plus longue, est supérieure à la première et fournit des renseignements plus complets et plus précis, tant pour le mécanisme du dépôt que pour les questions de structure. L'expérience montre cependant que les deux procédés sont pratiquement équivalents du point de vue de la détermination du potentiel critique et que les courbes v/E donnent souvent une idée approchée de l'allure des courbes e/E . Les courbes v/E ne se prêtent toutefois pas à une interprétation précise car, en réalité, elles n'expriment pas les constantes de vitesse mais des vitesses moyennes. La dissolution, à un potentiel constant, d'un dépôt formé à un potentiel plus négatif conduit au même équilibre que celui qu'on obtient par dépôt. L'équilibre final s'établit dans ce cas très lentement.

L'examen des courbes cinétiques à potentiel constant du dépôt et de l'évolution du dépôt aux divers potentiels permet de s'assurer de l'absence de phénomènes parasites liés par exemple à une faible dissolution du support qui perturberait la marche du dépôt ou qui déplacerait apparemment la position du potentiel critique. De toute façon, on doit utiliser des électrodes inattaquables dans le milieu considéré. On doit donc écarter des solutions fortement acides ou contenant des anions fortement complexants tels que CN^- , SCN^- , etc., qui risqueraient d'attaquer la cathode (et à fortiori l'anode). Il faut enfin noter que le choix de l'électrode est encore

¹ M. HAÏSSINSKY, J. Chim. Phys. 43, 21 (1946).

² Selon cette hypothèse, les ions se déchargeraient à une certaine distance, très petite, de l'électrode et se déposeraient ensuite sur celle-ci.

³ A. H. ATEN et L. N. BOERLAGE, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 39, 83 (1920). — R. W. GURNEY, Proc. Royal. Soc. [A] 134, 137 (1932).

⁴ H. S. TAYLOR, J. A. C. S. 53, 584 (1931); Chem. Rev. 9, 1 (1931).

⁵ S. Z. ROGINSKY, Adsorption et Catalyse, Acad. Sci. U.R.S.S. (Moscou 1948).

¹ F. F. VOLKENSTEIN, J. Chim. Phys. Russe 15, 296 (1941).

limité par la condition que son potentiel spontané dans le milieu considéré soit plus positif ou tout au plus *très légèrement* plus négatif que le potentiel critique présumé du dépôt. Dans le cas contraire, il serait évidemment impossible de tracer la courbe complète du dépôt.

Des mesures de potentiels critiques ou des études cinétiques sur des dépôts inférieurs à une couche monoatomique ont été réalisées jusqu'ici sur les éléments Po, Bi, Pb, Ag, Zn, Pa¹, Tc² et At³, mais les données concernant les trois derniers sont très limitées.

Polonium. — Le potentiel électrochimique normal de cet élément n'a pas encore pu être déterminé par des méthodes macroscopiques⁴. C'est précisément le besoin de le connaître qui a suscité de nombreux travaux électrochimiques à l'échelle des indicateurs, qui ont conduit à poser et à développer les problèmes que nous discutons à présent.

TAMMANN et WILSON⁵ ont observé que les quantités de Po déposées spontanément (a_d) en solution acide sur des métaux vulgaires ou peu nobles: Fe, Ni, Cu, Ag, sont proportionnelles à la concentration à l'équilibre a_s , tandis que le dépôt sur Au, Pt ou Pd, est donné par l'isotherme de FREUNDLICH:

$$a_d = k a_s^{1/n} \quad (3)$$

k et n étant des constantes; $1/n = 0,58$ pour le dépôt sur l'or. JOLIOT⁶ a mesuré en solution $10^{-9} N$ les quantités déposées à l'équilibre sur ce métal en fonction du potentiel, et a constaté que l'équation de HERZFELD n'est pas vérifiée quantitativement. En effet, la pente expérimentale RT/zF de l'équation (2) donne pour z la valeur 0,37, incompatible avec la valence de Po. En d'autres termes, l'augmentation des quantités maxima déposables avec le potentiel n'est pas assez rapide pour que l'équation (2) soit satisfaite.

Au potentiel constant, la cinétique du dépôt est donnée par l'équation:

$$-kt = \ln(1 - a_t/a_d), \quad (4)$$

a_t étant la quantité déposée au temps t .

Cette équation, établie également par JOLIOT pour le dépôt cathodique de Po, a été retrouvée pour le dépôt anodique de cet élément en solution acide et pour son dépôt cathodique en milieu alcalin⁷, pour les

dépôts cathodiques de Tc¹ et de Bi sur Au² et sur Ag³ et pour le dépôt spontané de Pa sur Pb⁴.

Le potentiel critique du dépôt cathodique de Po ne semble pas varier avec la concentration entre 10^{-8} et $10^{-10} N$ ⁵. Il est vrai que c'est un intervalle de concentration trop petit pour pouvoir observer facilement une variation de potentiel pour l'élément tétravalent qu'est le polonium

$$\frac{0,058 \cdot 2}{4} \approx 0,03 \text{ V.}$$

Mais à $10^{-13} N$, le potentiel critique est déplacé en sens inverse de celui prévu par l'équation (1), la sous-tension étant de 0,14 V par rapport aux solutions plus concentrées⁶; $E_{1/2}$ est déplacé au moins de 0,35 V au lieu de rester constant, comme le prévoit l'équation (2). La reproductibilité des résultats à cette dilution est d'ailleurs assez mauvaise et les quantités déposées dépendent souvent de «l'histoire» de l'électrode.

A $10^{-9} N$ le potentiel critique du dépôt sur Ag et probablement sur Cu et Ni est le même que sur Au⁷, mais sur W et Ta il est déplacé de 0,14 à 0,18 V vers les valeurs négatives⁸. La polarisation cathodique préalable de l'électrode de Ta modifie profondément l'allure de la courbe v/E et fait augmenter la surtension. La reproductibilité des résultats avec des cathodes en Pt ou Mo est mauvaise et les quantités déposées semblent dépendre peu du potentiel⁹.

Enfin, en solution alcaline, le potentiel critique du dépôt cathodique varie fortement avec la nature et l'état de polarisation de l'électrode et régulièrement avec la concentration de la soude. Il est très probable que le dépôt se produise ici par un effet secondaire, dû à la réduction des ions PoO_3^{---} par l'hydrogène naissant. Par contre, le potentiel anodique dans ce milieu est indépendant de l'alcalinité et de la nature de l'anode: Au, Pt ou Ni. Il s'agirait de la formation d'un peroxyde PoO_3 ⁷.

Bismuth. La variation avec la concentration du potentiel critique du dépôt cathodique sur Au et Ag en solution acide est résumée dans le tableau suivant, d'après les mesures faites à l'aide des courbes v/E par moi-même dans le domaine de 10^{-5} à 10^{-12} ¹⁰, par

¹ J. F. FLAGG et W. E. BLEIDNER, J. Chem. Physics 13, 269 (1945).

² A. COCHE, C. r. Acad. Sci. Paris 225, 936 (1947).

³ M. HAÏSSINSKY et J. DANON, J. Chim. Phys. 48, 106 (1951); 49, C 123 (1952).

⁴ M. CAMARCAT, G. BOUSSIÈRES et M. HAÏSSINSKY, J. Chim. Phys. 46, 153 (1949).

⁵ M. WERTENSTEIN, C. r. Acad. Sci. Varsovie 10, 771 (1917). — F. JOLIOT, J. Chim. Phys. 27, 119 (1930).

⁶ A. COCHE, H. FARAGGI, P. AVIGNON et M. HAÏSSINSKY, J. Phys. Radium 10, 312 (1949). — M. HAÏSSINSKY et A. COCHE, J. Chem. Soc. London 1949, 397.

⁷ M. HAÏSSINSKY, J. Chim. Phys. 30, 27 (1933).

⁸ A. COCHE et M. HAÏSSINSKY, C. r. Acad. Sci. Paris 222, 1284 (1946).

⁹ M. WERTENSTEIN, C. r. Acad. Sci. Varsovie 10, 771 (1917). — A. COCHE et M. HAÏSSINSKY, C. r. Acad. Sci. Paris 222, 1284 (1946).

¹⁰ M. HAÏSSINSKY, J. Chim. Phys. 32, 116 (1935).

¹ M. CAMARCAT, G. BOUSSIÈRES et M. HAÏSSINSKY, J. Chim. Phys. 46, 153 (1949).

² J. F. FLAGG et W. E. BLEIDNER, J. Chem. Physics 13, 269 (1945).

³ G. L. JOHNSON, R. F. LEININGER et E. SEGRÉ, J. Chem. Physics 17, 1 (1949).

⁴ Pour une tentative d'une telle détermination, voir M. HAÏSSINSKY, J. Chim. Phys. 32, 116 (1935).

⁵ G. TAMMANN et C. WILSON, Z. anorg. Chem. 173, 137 (1928).

⁶ F. JOLIOT, J. Chim. Phys. 27, 119 (1930).

⁷ M. HAÏSSINSKY, J. Chim. Phys. 29, 453 (1932); 30, 27 (1933); Trans. Amer. electrochem. Soc. 70, 1 (1936).

Tableau I

Normalité de Bi ⁺⁺⁺	Au ou Ag						3·10 ⁻¹⁶			
							Au		Ag	
	10 ⁻⁵	8,5·10 ⁻⁹	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	3·10 ⁻¹²	8·10 ⁻¹⁴	polarisé	non polarisé	polarisé	non polarisé
Potentiel mesuré	-0,120	-0,172	-0,212	-0,215	-0,250	-0,265	-0,32	-0,26	-0,25	-0,14
Potentiel calculé	-0,119	-0,168	-0,197	-0,216	-0,251	-0,277		-0,323		

COCHE à 10⁻¹³ ¹ et par DANON et moi-même à 10⁻¹⁶ N ². Les mesures expérimentales relatives à l'électrode de calomel saturée y sont comparées avec les valeurs théoriques calculées à l'aide de l'équation (1).

L'accord entre les valeurs théoriques et expérimentales est très bon jusqu'à 10⁻¹³ N, et même à 10⁻¹⁶ N l'équation de NERNST est encore valable pour le dépôt sur l'or qui a subi une polarisation cathodique préalable. Sans cette polarisation, le dépôt est affecté d'une sous-tension (tableau I), qui est encore plus importante dans le cas d'une cathode d'Ag³. Sur ce métal, une certaine sous-tension (0,08 V) persiste même après une polarisation préalable. Les conditions énergétiques du dépôt peuvent donc changer non seulement au passage d'un dépôt couvrant entièrement l'électrode à un dépôt inférieur à une couche monoatomique, mais encore au cours de la formation de ce dernier. C'est une conséquence très vraisemblable de l'hétérogénéité de la surface.

Ces résultats, obtenus à l'aide de courbes *v*/*E*, ont été confirmés et précisés par les mesures des quantités déposées à l'équilibre sur des électrodes en Au⁴ et Ag⁵ dans le domaine de concentration de 10⁻¹² à 4·10⁻⁷ N. Dans les conditions de volume et de surface choisies, le dépôt complet, à la dernière concentration, correspondrait à la formation d'une seule couche monoatomique uniforme. Les potentiels critiques, tracés cette fois à l'aide des courbes *e*/*E*, sont en bon accord avec ceux trouvés par les courbes *v*/*E* et donc avec les potentiels théoriques.

Nous avons, avec DANON, porté les logarithmes des quantités déposées à l'équilibre en fonction des quantités restées en solution, à des potentiels constants et équidistants de -0,05 V des potentiels critiques⁶.

Nous avons alors constaté que la répartition du bismuth entre une solution critique des ions Bi⁺⁺⁺ de 10⁻¹² à 8·10⁻⁷ N et une cathode d'argent est représentée par une courbe qui est constituée par deux tronçons rectilignes dont chacun correspond à une isotherme de FREUNDLICH:

¹ A. COCHE, C. r. Acad. Sci. Paris 225, 936 (1947).
² J. DANON et M. HAÏSSINSKY, J. Chim. Phys. 47, 951 (1950).
³ Pour l'influence de la polarisation cathodique préalable sur la cinétique du dépôt de Bi à 10⁻¹² N voir référence ¹⁰, page 128.
⁴ A. COCHE, J. Chim. Phys. 48, 135 (1951) et sous presse.
⁵ M. HAÏSSINSKY et J. DANON, J. Chim. Phys. 48, 106 (1951); 49, C 123 (1952).
⁶ Pour la justification thermodynamique de ce procédé voir référence ⁵.

$$a_d = k a_s^{1/n}.$$

L'une de ces isothermes, valable pour les faibles dépôts (entre 1/10⁶ et 3/200 environ d'une couche monoatomique, a comme exposant 1/*n* = 0,85; pour l'autre, correspondant à des dépôts plus importants allant jusqu'à 1,3 couche, 1/*n* = 1,7. Les isothermes tracées à d'autres potentiels équidistants des potentiels critiques sont également constituées par deux droites auxquelles correspondent des exposants légèrement différents. Nous reviendrons plus loin sur ce résultat, très significatif pour l'étude des phénomènes d'adsorption.

Plomb. - Des mesures à l'équilibre ont été faites seulement par ERBACHER¹ pour le dépôt spontané sur Ag et sur Ni, à 20° et à 79°C, dans le domaine de concentration de 6,4·10⁻³ à 6,4·10⁻⁷ N. L'isotherme de FREUNDLICH est valable avec 1/*n* = 0,71 sur Ag et 0,57 sur Ni à 20°. Toutes les isothermes tendraient à se couper en un point correspondant à la formation d'une couche monoatomique.

D'après la forme des courbes *v*/*E* obtenus par COCHE², la répartition de ThB (isotope de Pb) entre la solution et une cathode de Pt, après deux heures d'électrolyse, varie avec la concentration entre 10⁻⁶ et 10⁻¹¹ N, selon une équation du type FREUNDLICH avec 1/*n* = 0,83. Il s'agit ainsi d'*isochrones* et non d'*isothermes*, mais comme il existe un parallélisme entre les deux types de courbes³ il semble que la répartition à l'équilibre suive ici aussi une isotherme de FREUNDLICH.

Le potentiel critique du dépôt sur Pt de ThB 10⁻⁶ N coïncide avec la valeur théorique, mais il reste pratiquement constant avec l'augmentation de la dilution jusqu'à 6·10⁻¹¹ N; en d'autres termes, la *sous-tension* croît avec la dilution. D'après la forme des courbes, il est cependant peu probable que *E*_{1/2} reste aussi inchangé. Il est curieux de constater que le macro-dépôt formé en solution plus concentrée présente, à 10⁻⁵ N, une *surtension* de 0,29 V qui décroît avec l'augmentation de la concentration: à 0,01 N elle n'est que de 0,02 V. La concentration limite 10⁻⁶ correspond à peu près à la formation d'une couche monoatomique uniforme complète.

¹ O. ERBACHER, Z. phys. Chem. [A] 163, 215 (1933); 182, 243 (1938).
² A. COCHE, C. r. Acad. Sci. Paris 225, 936 (1947).
³ S. Z. ROGINSKY, *Adsorption et Catalyse*, Acad. Sci. U.R.S.S., (Moscou 1948).

Tableau II

Electrode	Au	Ag	Cu	Bi	Ni	Ta
Potentiel mesuré	-0,67	-0,655	-0,655	-0,675	$\simeq -0,65$	-0,85
Potentiel calculé	-0,67					

Les valeurs des potentiels critiques mesurés par COCHE sur différents supports en solution acétique de $6 \cdot 10^{-11} N$ de Pb^{++} sont données dans le tableau II. On retrouve le potentiel théorique pour Au, Ag, Cu, Bi et à peu près pour Ni. Sur Ta, on a de nouveau une surtension de 0,18 V.

Argent. – Le comportement électrochimique de cet élément à la concentration $10^{-7} N$ et à une concentration encore plus faible évaluée à $10^{-9} N$, a été examiné par ROGERS et ses collaborateurs¹ et comparé aux conditions du dépôt à 10^{-5} et $10^{-3} N$. Suivant les mesures, le potentiel de demi-onde $E_{1/2}$ du dépôt sur Pt est le même à 10^{-7} et $10^{-9} N$, le dépôt étant entaché d'une forte sous-tension dans les deux cas: de 0,4 V environ en solution de KNO_3 à 0,1 N à pH 4, et plus encore en solution perchlorique acide. Les courbes v/E dans la solution la plus diluée dépendent fortement de la nature de l'électrode, la sous-tension étant plus accentuée sur l'or et diminuée sur W et Rh. L'allure de la courbe du dépôt sur Ta est à peu près la même que celle que nous avons signalée pour le dépôt de Po et de Bi sur le même métal. Les modalités de ces dépôts dépendent, en outre, du traitement préalable qu'on a fait subir au platine: chauffage, polarisation cathodique, décapage par polarisation anodique dans KCN, etc. Les auteurs ont montré, de plus, par des mesures polarographiques, que dans la macro-électrolyse de solutions d' Ag^+ ($10^{-3} N$) l'influence du support est d'une importance bien moindre qu'à l'échelle des indicateurs.

Dans le domaine de concentration et de durées d'électrolyse correspondant à la formation d'une couche monoatomique (sur Pt, Pd, Au), les courbes v/E n'auraient pas une forme régulière en S et présenteraient des paliers intermédiaires. Ces résultats et d'autres irrégularités observées dans ces conditions conduisent les auteurs à confirmer le point de vue exposé plus haut sur le rôle de l'hétérogénéité de la surface.

Il faut cependant rappeler que suivant v. EULER² et ROLLIN³, les ions Ag^+ sont spontanément adsorbés, en quantités importantes sur Au et Pt. Il est donc probable que ce phénomène domine le dépôt électrochi-

mique proprement dit. Il semble d'ailleurs que par suite de cette adsorption spontanée, la limitation du dépôt d'argent à de faibles quantités, nécessaire pour avoir le début de la courbe v/E , ne soit possible que si le métal est polarisé *anodiquement*, ce qui rend l'interprétation des observations encore plus délicate.

Zinc. – Suivant les recherches en cours de HAENNY et ses collaborateurs¹, le potentiel critique du dépôt de $Rd-Zn$ à $10^{-10} N$ sur Pb coïncide avec la valeur calculée à l'aide de l'équation (1). Il en est probablement de même pour le dépôt sur Cd et Sn². Par contre, ce potentiel est indépendant de la dilution entre 10^{-6} et $10^{-10} N$ sur Cu. Le potentiel du dépôt sur Pt se déplace vers des valeurs toujours plus positives lorsque la dilution croît, c'est-à-dire en sens opposé à celui prévu par l'équation (1) (cf. Pb).

Discussion. – L'ensemble de ces expériences, réalisées souvent dans des conditions différentes et avec des soins variables, permet néanmoins de dégager des conclusions qui éclairent mieux qu'avant les relations énergétiques régissant la formation de dépôts électrolytiques en solution extrêmement diluée.

Un des résultats les plus remarquables est sans doute le fait que la variation du potentiel critique du dépôt de Bi avec la concentration est donnée par l'équation de NERNST jusqu'à $3 \cdot 10^{-16} N$. Cette concordance systématique de la loi ne peut pas être considérée comme une coïncidence fortuite. Elle montre que *du point de vue de leur activité thermodynamique, les ions se comportent normalement à une dilution aussi extrême, où chaque centimètre cube de la solution ne contient que $6 \cdot 10^4$ ions.* C'est un résultat important pour l'interprétation d'un grand nombre de mesures potentiométriques, polarographiques, conductimétriques, etc. Si on trouve souvent, pour des systèmes hétérogènes comprenant des solutions ioniques très diluées, des écarts des lois physico-chimiques macroscopiques, il faudrait voir, en premier lieu, si ce n'est pas la présence d'un corps solide qui en est responsable.

On doit toutefois tenir compte également du fait qu'un grand excès d'ions de signe contraire favorise la formation de complexes et peut conduire, même en

¹ L. B. ROGERS et A. F. STEHNEY, J. Electrochem. Soc. 95, 25 (1949). – L. B. ROGERS, D. P. KRAUSE, C. GRIESS et O. B. EHRLINGER, J. Electrochem. Soc. 95, 33 (1949). – L. B. ROGERS, J. T. BYRNE et J. C. GRIESS, 99th Meeting Electrochem. Soc. Washington (Avril 1951).

² H. v. EULER, Z. Elektrochem. 28, 2, 464 (1922).

³ B. V. ROLLIN, J. A. C. S. 62, 86 (1950).

¹ C. HAENNY, communication personnelle. – C. HAENNY et P. MIVELAZ, Helv. chim. acta 31, 633 (1948).

² C. HAENNY et P. MIVELAZ avaient d'abord constaté pour ces deux électrodes une sous-tension de 0,18 V pour une concentration qui avait été évaluée à $10^{-15} N$. Une vérification ultérieure a montré que la valeur de la concentration a été fortement surestimée, de sorte que si une sous-tension existe, elle est beaucoup plus faible.

solution homogène extrêmement diluée, à des phénomènes qu'on ne rencontre pas en solution plus concentrée.

D'autre part, la présence de fortes concentrations électrolytiques peut agir sur la structure d'une électrode en bloquant un certain nombre de centres actifs. De tels effets ont été envisagés par THON¹, ERDEY-GRÜZ² et FISCHER³. Ils expliquent sans doute, tout au moins en partie, les déplacements du potentiel de dépôt de Po vers des valeurs plus négatives, provoqués par l'addition de certains sels neutres en quantité suffisante (HAÏSSINSKY et GUILLOT⁴).

Nous avons cependant vu que la validité de l'équation (1) est loin d'être générale: suivant le système examiné, on observe soit que l'équation est valable, tout au moins en prenant certaines précautions, soit que le dépôt présente une surtension ou une sous-tension; dans d'autres cas, on ne peut pas définir un potentiel critique. Certaines électrodes se comportent souvent de la même façon, quelle que soit la nature des ions déposables: sur le platine, par exemple, on observe une sous-tension avec Bi, Pb, Ag et Zn; sur le tantale, une surtension avec Bi, Po et Ag. L'or semble être le métal sur lequel la décharge des ions se fait dans des conditions les plus proches de la réversibilité.

Parmi les métaux examinés, le tantale est le moins attaquant dans les milieux qui ont été utilisés et c'est pourtant sur lui qu'on observe des déplacements des potentiels critiques les plus importants vers des valeurs négatives. Ces déplacements ne sont donc pas dus, comme il a été suggéré⁵, à l'attaque du support. C'est sans doute la couche d'oxyde couvrant le tantale qui fait diminuer l'énergie d'adsorption et rend, par conséquent, le potentiel de décharge plus élevé. D'autre part, la sous-tension fréquente sur Pt doit être attribuée au fort pouvoir adsorbant, bien connu, de ce métal.

Mais à partir d'une certaine dilution, on observe même sur l'or des perturbations qui dépendent notamment de l'état de surface du métal. D'une façon générale, le rôle de l'état de la surface et de «l'histoire» de l'électrode devient de plus en plus important avec l'augmentation de la dilution. Il est naturel d'attribuer ce comportement à l'hétérogénéité de la surface dont l'importance se répercute d'autant plus sur les phénomènes du dépôt que le degré de recouvrement de l'électrode est plus faible. La réalité de cette hétérogénéité a été d'ailleurs mise en évidence par l'étude, à l'aide d'une méthode photographique, de la distribution de parcours des rayons alpha émis par les dépôts électrolytiques de Po⁶.

Pour avoir une vue d'ensemble des faits expé-

riementaux, revenons à l'équation (1) en l'écrivant sous la forme:

$$E = \frac{RT}{zF} \ln \frac{P}{a}, \quad (5)$$

où P est une constante caractéristique de l'électrode M/M^+ . Supposons que nous formions un dépôt de ce métal, inférieur à une couche monoatomique, sur un métal étranger S et que nous trouvions que le potentiel correspondant au début de la décharge (potentiel critique) est donné par l'équation (5). Ceci signifierait, comme nous l'avons dit, que l'énergie de fixation de M sur certains points de la surface est égale à l'énergie de sublimation A' de M et que, par conséquent, l'électrode S se comporte dans ce cas particulier, au début de la décharge, exactement comme M (la constante P conserve pratiquement sa valeur). Si la surface de S était énergétiquement homogène, la partie couverte de l'électrode et la partie «nue» seraient équivalentes et le dépôt complet devrait se faire sans surtension. En réalité, les centres pour lesquels $A = A'$ sont peu nombreux et sont plus ou moins rapidement saturés. La marche ultérieure du dépôt dépend alors de la distribution des plages actives sur la surface: si cette distribution est exponentielle, la courbe du dépôt aura une allure analogue à celle qui est donnée par l'équation de HERZFELD (mais pas nécessairement avec la pente RT/zF).

En augmentant la dilution, étant donné le caractère indiqué de la distribution des centres, il est très probable que l'équation (5) soit encore valable. Mais il est possible que pour une dilution correspondant à un certain degré de recouvrement très faible, l'énergie d'adsorption devienne beaucoup plus grande que l'énergie de sublimation, de sorte que l'influence du terme en $\ln a$ soit compensée avec excès. Le dépôt se ferait alors avec une sous-tension et le potentiel pourrait ne plus dépendre de la concentration ou même se déplacer en sens inverse à celui que prévoit l'équation (5).

Une telle situation pourrait se présenter pour certains systèmes à toutes les dilutions correspondant à un recouvrement incomplet de l'électrode. On aurait alors toujours une sous-tension (P plus petit) qui pourrait, selon la distribution, rester constante ou varier avec la dilution. Si, par contre, l'énergie d'adsorption A est inférieure à l'énergie de sublimation A' pour tous les degrés de recouvrement, on aurait toujours une surtension (P plus grand).

Le caractère exponentiel de la distribution des centres résulte encore du fait que la répartition a_a/a_s à l'équilibre est souvent représentée par une isotherme de FREUNDLICH. En effet, ZELDOWITSCH a montré dès 1935¹ que l'isotherme de LANGMUIR, établie pour une surface adsorbante homogène, se transforme en isotherme de FREUNDLICH, si on admet une structure

¹ N. THON, *L'électrolyse et la polarisation électrique* Hermann, Paris (1934).

² T. ERDEY-GRÜZ, *Proc. Roy. Soc. [A]* 172, 163 (1935).

³ H. FISCHER, *Z. Elektrochem.* 49, 342, 376 (1943).

⁴ M. HAÏSSINSKY et M. GUILLOT, *J. Phys. Radium* 5, 419 (1934).

⁵ L. B. ROGERS et A. F. STEHNEY, *J. Electrochem. Soc.* 95, 25 (1949).

⁶ A. COCHE, H. FARAGGI, P. AVIGNON et M. HAÏSSINSKY, *J. Phys. Radium* 10, 312 (1949).

¹ V. B. ZELDOWITSCH, *Acta phys. chim. U.R.S.S.* 1, 1961 (1934).

hétérogène avec une distribution exponentielle des énergies d'adsorption caractérisant les centres actifs. Le même résultat a été obtenu ensuite par d'autres auteurs¹ et notamment par CREMER² qui a interprété ainsi les mesures d'ERBACHER concernant le dépôt spontané de ThB sur Ag et que nous avons déjà mentionnées.

Il faut cependant remarquer, comme plusieurs auteurs l'ont fait (notamment FRANKENBURG³, VOLKENSTEIN⁴ et HALSEY⁵), que la seule forme de l'isotherme (avec $1/n < 1$) ne permet pas de choisir entre les deux hypothèses possibles: distribution exponentielle de l'énergie d'adsorption sur une surface hétérogène ou interaction entre les molécules ou atomes adsorbés par suite de l'intervention de forces répulsives sur une surface homogène, puisque l'une et l'autre peuvent conduire à cette isotherme. Une interaction répulsive est probable dans l'adsorption des gaz ou d'autres molécules, entre lesquelles s'exercent normalement des forces de VAN DER WAALS de répulsion aux températures des expériences. Elle est moins vraisemblable pour les atomes métalliques dont l'assemblage en un réseau solide est accompagné d'une diminution d'énergie libre. Dans ce cas on doit s'attendre plutôt à l'intervention de forces d'attraction. Ce type d'interaction conduit également à une isotherme de FREUNDLICH⁶, mais avec $1/n > 1$.

C'est ce que nous avons constaté pour le dépôt de Bi sur Ag: aux très faibles dépôts l'isotherme de FREUNDLICH a un exposant 0,85, tandis que cet exposant est bien supérieur à l'unité aux recouvrements moyens ou proches d'une couche complète. Au début du dépôt, c'est donc surtout l'hétérogénéité de l'électrode qui joue, mais au fur et à mesure que la surface se couvre d'atomes déposés, les forces d'attraction entre ceux-ci deviennent le facteur important. La variation des valeurs des exposants avec le potentiel appliqué est bien dans le sens qu'on peut prévoir d'après cette interprétation.

La distribution exponentielle des centres n'est pas la seule possible. SHLYGINE et FROUMKINE ont établi⁷ au cours d'une étude de la polarisation anodique de l'hydrogène (H_2 + noir de platine) que la répartition du gaz adsorbé a_d en fonction de la pression est donnée

par l'équation:

$$a_d = k \cdot \ln bp, \quad (6)$$

où k et b sont des constantes. TEMKINE¹ a montré que ce type d'isotherme peut être déduit théoriquement pour la région de recouvrement moyen si on admet une loi de répartition *linéaire* et une migration superficielle de l'adsorption. Ces résultats ne sont évidemment pas en contradiction avec les expériences sur les dépôts métalliques, car le type d'hétérogénéité peut être différent dans les deux cas; la loi d'interaction l'est assurément.

Nous pensons avoir montré que les courbes de polarisation obtenues pour les dépôts électrolytiques extrêmement minces s'interprètent correctement en invoquant la variation de l'énergie d'adsorption avec la nature du métal et la structure de la surface. Ces résultats complètent ainsi et précisent ce que nous savons sur les conditions de formation de dépôts macroscopiques sur des supports étrangers². D'une façon plus générale, l'ensemble des expériences décrites donne, d'une part, des indications quant à l'origine de la surtension qu'on observe pour la formation de dépôts métalliques et, d'autre part, un moyen précieux pour l'étude théorique des phénomènes d'adsorption.

Summary

The ordinary methods of determining electrochemical potentials cease to be applicable in extreme dilution. The energy conditions of the formation of very thin electrolytic deposits (less than a monoatomic layer) can then be explored by means of radioactive indicators, following particular polarisation curves. These curves give the rate of deposition or the equilibria of distribution as a function of the potential applied to an inert electrode. A discussion is given of the relationship between the critical potential defined by such curves and the theoretical potential computed from the Nernst equation for the given concentration. Experimental results are collected for the critical potentials of the deposition of Po, Bi, Pb, Ag, etc., from extremely dilute solutions on to various metals.

It is shown that the heterogeneity of the electrode surface plays a considerable rôle in these electrolyses. It explains the overvoltage and the undervoltage observed in certain cases, and the exponential form of the polarisation curves. In particular, the repartition of bismuth between a nitric acid solution of the ions of this metal and a silver cathode is represented by two Freundlich isotherms:—one of these with an exponent $1/n < 1$ corresponds to very small coverages and is explained by the heterogeneity of the surface; the other one with $1/n > 1$ is valid for coverages greater than 1 % and is due to the intervention of attraction forces between the deposited atoms.

Finally, it is concluded, from electrolytic experiments on Bi^{+++} $3 \cdot 10^{-16}$ N solutions, that even at this extreme dilution ($6 \cdot 10^4$ ions/cm³) the thermodynamic activity of these ions in solution is quite normal.

¹ M. I. TEMKINE, J. Chim. Phys. Russe 15, 296 (1941).

² Voir par exemple sur ce sujet R. PRONTELLI, Metallurg. ital. 38, 1 (1946); 3rd Int. Confer. Electrodeposition, N° 19 (1949).

¹ G. HALSEY et H. S. TAYLOR, J. Chem. Physics 15, 624 (1947). — G. HALSEY, J. Chem. Physics 16, 931 (1948). — S. Z. ROGINSKY, Adsorption et Catalyse Moscou (1948). — R. SIPS, J. Chem. Physics 16, 490 (1948). — F. F. VOLKENSTEIN, J. Chim. Phys. Russe 21, 163 (1947).

² E. CREMER, Monatshefte Chem. 72, 126 (1947); J. Chim. Phys. 46, 411 (1949). — E. CREMER et S. FLÜGGE, Z. phys. Chem. [B] 41, 453 (1939).

³ W. G. FRANKENBURG, J. A. C. S. 66, 1827, 1838 (1944).

⁴ F. F. VOLKENSTEIN, J. Chim. Phys. Russe 21, 163 (1947).

⁵ G. HALSEY, J. Chem. Physics 16, 931 (1948).

⁶ Y. M. GOLDFELD et N. I. KOBOSEV, J. Chim. Phys. Russe 15, 257, 275 (1941). — G. HALSEY, J. Chem. Physics 16, 931 (1948). — H. S. TAYLOR, J. Chim. Phys. 47, 74, 122 (1950). — F. F. VOLKENSTEIN, J. Chim. Phys. Russe 21, 163 (1947).

⁷ A. SHLYGINE et A. FROUMKINE, Acta phys. chim. U.R.S.S. 3, 791 (1935).

La struttura microscopica del nucleo durante il riposo

Di CLAUDIO BARIGOZZI¹, Milano

Il nucleo cellulare in riposo, fissato e colorato, appare costituito – secondo la descrizione classica – da cromatina, nucleolo (in numero di uno o più) e succo nucleare, il tutto avvolto da una membrana. Lo scopo di questo articolo è di illustrare i principali problemi di struttura microscopica della cromatina e del nucleolo nella fase di riposo.

Il nome di cromatina viene attribuito a tutto ciò che – nell'interno del nucleo – si colora con sostanze basiche (come l'ematossilina, la safranina, ecc.) e col reattivo di Schiff per l'acido timonucleico, assumendo aspetto di filamento o di massa compatta. In questa sostanza si trovano molti componenti, oltre ai due acidi nucleici: la composizione chimica della cromatina però non sarà presa qui in considerazione.

Le vecchie tecniche, usando differenti fissativi (come l'acido osmico, l'acido picrico, ecc.), l'inclusione in paraffina e le sezioni microtomiche, forniscono una immagine del nucleo che generalmente viene definita «reticolo» di cromatina con filamenti e nodi, masse irregolari connesse a filamenti, oppure addirittura con una struttura alveolare: reticolo e alveoli possono anche coesistere (FLEMMING, 1879)².

Le prime ricerche sul nucleo in riposo, trovarono che – oltre la cromatina – compaiono dei filamenti associati ad essa, che si colorano solo con coloranti acidi. Questi filamenti furono primitivamente chiamati «acromatina», ma ricevettero pure il nome di linina ed altre denominazioni; secondo WILSON (1924) il termine di «plastina» sarebbe pure sinonimo dei primi due.

Linina e cromatina, osservate attentamente, dimostrarono ambedue una ulteriore struttura granulare. Il termine di acromatina fu poi abbandonato, e HEIDENHAIN introdusse una nuova denominazione (1890–1907): cromatina e plastina furono considerate varietà della stessa sostanza, differenziata in due forme una basofila (cromatina) ed una acidofila (plastina). La prima fu chiamata anche *basicromatina*, e la seconda *ossicromatina*. HEIDENHAIN credeva poi che esistesse ancora un altro elemento strutturale (acromatina) costituente un «*enchilema*», più o meno corrispondente al succo nucleare.

Accanto alla cromatina si riscontra una massa di sostanza acidofila, chiamata nucleolo o plasmosoma. Vi possono essere anche più di una di queste formazioni,

denominate altresì «veri nucleoli», per distinguerle dalle masse di cromatina compatta (WILSON¹), modernamente chiamate «cromocentri».

Usando queste vecchie tecniche, lo stesso aspetto appariva con grande uniformità nei tessuti somatici e germinali delle più diverse specie, tanto che, fino a quando la tecnica non fu rinnovata, la sola eccezione degna di nota era rappresentata dai nuclei delle ghiandole salivari dei Ditteri, coi loro grossi filamenti a bande trasversali (BALBIANI, 1889).

Quando, nel 1924, fu introdotta la colorazione di Feulgen per la dimostrazione dell'acido timonucleico, fu possibile distinguere la cromatina dal nucleolo, e il nucleolo dai cromocentri: i nucleoli, infatti, sono privi di acido timonucleico e Feulgen-negativi, a differenza della cromatina che si colora intensamente. La distinzione fra basicromatina e ossicromatina non trovò più, invece, alcun nuovo sostegno.

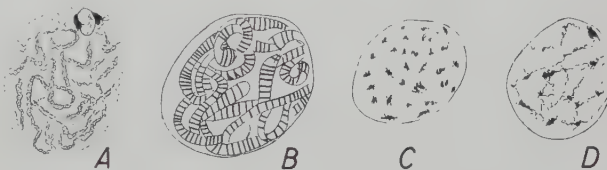


Fig. 1.^a – Differenti strutture di nuclei in riposo, trattati con lo schiacciamento: A nucleo filamentoso con due cromocentri associati al nucleolo; B nucleo salivare di Dittero; C nucleo con cromosomi contratti di Rincote; D nucleo con filamenti e zolle, come nel parenchima epatico di Anfibia.

Questo corpo di nozioni rimase pressochè invariato finchè fu introdotta la tecnica dello schiacciamento (*squash* e *smearing*, degli autori anglosassoni). Questo modo di preparare i nuclei elimina, come è noto, inclusione e affettatura, e permette di appiattire meccanicamente i nuclei stessi, liberati dal citoplasma mediante l'azione dell'acido acetico. È persino possibile rompere la membrana nucleare, e isolare i filamenti cromatici che vi sono raggomitolati. Mediante l'uso di vari coloranti, quali il carminio, l'orceina, la fucsina ridotta, ecc. (DARLINGTON e LA COUR²), con questa tecnica si sono realizzati grandi progressi nello studio della cromatina, che viene certo conservata in condizioni vicine a quelle del vivente. I principali risultati raggiunti in questo modo possono essere riassunti nei punti seguenti (vedi fig. 1):

¹ Istituto di Genetica, Università di Milano.

² Per una informazione generale sulla struttura del nucleo prima dell'uso dello schiacciamento, vedi E. B. WILSON, *The cell in development and heredity* (Macmillan Co., New York 1925).

¹ E. B. WILSON, *The cell in development and heredity* (Macmillan Co., New York 1925).

² C. D. DARLINGTON e L. F. LA COUR, *The handling of chromosomes* (Allen & Unwin, London 1947).

1° *I filamenti a bande trasversali dei nuclei salivari dei Ditteri sono veri cromosomi, in sinapsi permanente* (HEITZ e BAUER¹). Le dimensioni eccezionalmente cospicue di questi cromosomi, hanno permesso di conoscerne la struttura, almeno nelle sue linee generali. La loro caratteristica più appariscente, le bande trasversali, risulta come l'effetto di molti granuli (cromomeri) alla stessa altezza, inquantochè appartenenti a un gran numero di filamenti elementari di uguale lunghezza e struttura, allineati e riuniti in fascio parallelo (BAUER, BAUER e CASPERSSON²). Per questo, tali nuclei – effettivamente poliploidi – sono chiamati «politénici». In alcuni Ditteri (per esempio nel genere *Drosophila*) la struttura a bande è limitata a una parte, detta *eucromatina*, e corrisponde agli allineamenti dei geni principali; il restante – che in *Drosophila melanogaster* corrisponde al cromosoma Y, a una larga parte dell'X e ai punti di attacco al fuso degli autosomi – è formato da cromomeri non allineati, che tendono ad attrarsi per formare un cromocentro o massa comune ai diversi cromosomi (*eterocromatina*). Fra le numerose osservazioni fatte su questi cromosomi, emergono quelle sugli anelli, occhielli, ecc. da mutazioni cromosomiche eterozigoti, che offrono le più valide prove per la localizzazione dei geni.

2° *La maggioranza dei nuclei capaci di dividersi presenta una cromatina filamentosa e un numero fisso (1-2 o poco più) di cromocentri avvicinati ciascuno a un nucleolo*. Questa osservazione ha mostrato che le strutture reticolari e alveolari sono frequentemente legate alla tecnica dell'inclusione. In nuclei poliploidi il numero dei cromocentri e dei nucleoli è più elevato, in relazione alla molteplicità degli assetti cromosomici presenti.

Una forma peculiare di cromosomi interfascici a filamento è il cosiddetto «lamp-brush chromosome», caratteristico degli ovociti di Anfibi e Pesci. Questo tipo di cromosoma si distingue per avere una serie numerosa di barbe sporgenti lateralmente da un sottile filamento assiale: questa struttura è tuttora di incerta interpretazione.

3° *Esistono nuclei con cromosomi in stato di contrazione permanente*. Questi cromosomi interfascici non si differenziano gran che dai cromosomi metafascici, e si riscontrano in cellule somatiche, spesso poliploidi e incapaci di dividersi, dei Rincoti (GEITLER³), dei Lepidotteri, dei Tricotteri e dei Crostacei (BARIGOZZI⁴).

4° *In tessuti che non si dividono mai, si trovano nuclei con struttura reticolare o a poche grosse masse*. Ciò prova che questo modo di presentarsi della cromatina non è solo e sempre dovuto al trattamento. Nuclei reticolati si osservano nelle cellule del parenchima epatico di Axolotl.

Un altro caso – ma ancora troppo poco noto – è quello dei macronuclei dei Ciliati, che appaiono compatti e formati da gran numero di cromomeri accostati (BARIGOZZI⁴).

I nuclei in riposo sono stati anche studiati *in vivo*.

I nuclei salivari dei Ditteri mostrano la propria struttura con incostanza, anche se BAUER (1935 *op. cit.*) poté descrivere in ghiandole appena estratte di *Chironomus thummi* i più minuti particolari; in altri casi i nuclei appaiono omogenei (BARIGOZZI²). È possibile che la causa di questo comportamento sia da cercarsi in un differente grado di imbibizione d'acqua. La stessa causa è invocata da SINKE⁵ e da KUWADA⁴ per spiegare le trasformazioni strutturali osservabili in nuclei vivi di Piante, che passano reversibilmente da uno stadio omogeneo (più idratato) ad uno eterogeneo (meno idratato), in cui si distingue un gomitollo di filamenti. RIS e MIRSKY⁵ hanno provato che, in cellule animali, il passaggio irreversibile da nucleo omogeneo a nucleo eterogeneo con cromosomi distaccati e visibili, può essere prodotto anche da azioni meccaniche.

Da tutti questi dati parrebbe di dover concludere che il nucleo vivo non lascia scorgere le parti che lo compongono, se non spesso nei nuclei salivari dei Ditteri, e si differenzia solo dopo essere stato sottoposto a variazioni del tenore d'acqua e ad azioni meccaniche. A queste vedute si oppongono le osservazioni di FELL e HUGHES⁶ su culture di tessuti di topo, osservate al contrasto di fase. Questi autori, infatti, vedono un numero vario ma elevato di cromocentri oltre a filamenti scarsamente colorabili nei preparati trattati colla reazione di Feulgen. È difficile conciliare queste osservazioni antitetiche. Forse si tratta di fatti entrambi accettabili, ma non generalizzabili.

Un nuovo passo importante nella conoscenza della struttura del nucleo è stato realizzato da MIRSKY e POLLISTER⁷, e da CLAUDE e POTTER⁸, colla preparazione dei «cromosomi isolati».

Le tecniche usate consistono nel dissolvere il citoplasma di cellule in riposo (elementi rossi del sangue, linfociti, cellule del fegato, ecc.), nell'isolare dapprima, centrifugando, i nuclei nudi, nel romperne con mezzi meccanici la membrana, e nel separarne infine la cromatina, sempre mediante la centrifugazione. Il centrifugato appare costituito da filamenti isolati Feulgen-positivi, talvolta uniti a un nucleolo. Questi filamenti presentano i caratteri seguenti:

a) forma di bastoncino, più o meno lungo, spaccato

¹ C. BARIGOZZI, Boll. Soc. it. Biol. sperim. 25, 753 (1950).

² C. BARIGOZZI, Verh. V. int. Zellforscherkongr., Zurigo, 190 (1938).

³ N. SINKE, Mem. Coll. Science, Kyoto Imp. Univ. B, 15, 1 (1939).

⁴ Y. KUWADA, Cytologia, Fujii Jub. Vol., 389 (1939).

⁵ H. RIS e A. E. MIRSKY, J. Gen. Physiology 32, 489 (1949).

⁶ H. B. FELL e A. F. HUGHES, Quart. J. Micr. Sci. 90, 355 (1949).

⁷ A. E. MIRSKY e A. W. POLLISTER, Proc. Nat. Acad. Sci. 28, 344 (1942).

⁸ A. CLAUDE e J. S. POTTER, J. exp. Med. 77, 345 (1943).

¹ E. HEITZ e H. BAUER, Z. Zellforsch. 17, 67 (1933).

² H. BAUER, Z. Zellforsch. 23, 280 (1935). – H. BAUER e T. CASPERSSON, Proc. VIIIth Int. Congr. Genetics, 533 (1949).

³ L. GEITLER, Chromosoma 1, 1 (1939).

⁴ C. BARIGOZZI, Arch. it. Anat. Embr. 52, 83 (1947); Pubbl. Staz. Zool. Napoli, Suppl. 21, 228 (1949).

longitudinalmente in due cromatidi, e spesso con una strozzatura (RIS e MIRSKY¹, POLLI², fig. 2);

b) reazione di Feulgen positiva (PFEIFFER³, POLLI, *op. cit.*) per tutto l'asse del filamento, che talvolta si differenzia in porzioni più o meno colorabili. Questi filamenti prendono anche le comuni sostanze coloranti e sono nettamente visibili a fresco col microscopio a contrasto di fase (POLLI, *op. cit.*);

c) i due cromatidi, visti col microscopio elettronico, appaiono ciascuno avvolto a spirale (YASUZUMI⁴, YASUZUMI *et al.*⁵).

Due autori hanno criticato queste asserzioni: LAMB⁶, che tentò di dimostrare che i cosiddetti «cromosomi isolati» sono frammenti e detriti di strutture cromatiniche rotte, e YASUZUMI⁴ che nega una vera Feulgen-positività per questi cromosomi, che egli chiama «metabolici». Però, questi con alcuni collaboratori, corresse ulteriormente il proprio punto di vista⁵, e affermò che la reazione di Feulgen è in realtà sempre positiva.

La critica di LAMB è stata controbattuta efficacemente da RIS e MIRSKY (*op. cit.*) e da POLLI (*op. cit.*). I primi portano nuovi elementi in favore della natura cromosomica dei filamenti isolati (vedi sopra). POLLI, invece, dimostra la somiglianza fra i cromosomi isolati e i cromosomi metafasici della stessa specie zoologica, e le differenze – invece – fra cromosomi isolati di specie che differiscono per i cromosomi metafasici (pollo, piccione, tartaruga, lucertola, carpa, trota).

Si può concludere in generale che i cromosomi isolati sono veri cromosomi, non alterati significativamente dal procedimento usato per isolarli.

È vero che fra di essi si osservano degli artefatti,

come ammassamenti di cromosomi e stiramento per il lungo di nuclei interi: queste forme si possono – però – distinguere facilmente dai primi.

Con queste premesse è possibile comparare i filamenti interfascici dei nuclei schiacciati e i cromosomi isolati. I primi sono generalmente sottili e sinuosi, con alcune eccezioni, come i cromosomi salivari dei Ditteri e quelli compatti dei Rincoti; i secondi sono rigidi, dritti, lisci, di spessore non molto inferiore a quello dei cromosomi metafasici.

Si tratta, allora, di scegliere quale aspetto ha maggior probabilità di corrispondere alla condizione del vivente. Bisogna accettare come fedeli alle condizioni viventi i cromosomi contratti dei Rincoti, ecc. e quelli giganti dei Ditteri, per i quali ultimi non solo il controllo *in vivo* è particolarmente chiarificatore, ma anche l'osservazione delle mutazioni cromosomiche eterozigoti.

Per i nuclei filamentososi e a zolle è difficile oggi, invece, dare una risposta, perchè bisogna riconoscere che, se la tecnica dello schiacciamento è assai drastica, non lo è meno quella dell'isolamento. Argomenti di indubbia validità, atti a far ritenere più attendibile la struttura dei cromosomi isolati sono desumibili dalle ricerche di RIS e MIRSKY (*op. cit.*) e di POLLI (*op. cit.*). I primi due autori affermano che siccome il nucleo in riposo vivente non mostra strutture filiformi, gli elementi strutturali più adatti a realizzare questa condizione sono i cromosomi isolati, spessi, e in grado di riempire senza lacune l'intera cavità nucleare; è però difficile affermare che le lacune riempite dal succo nucleare siano in ogni caso degli artefatti. POLLI, avendo lavorato su cromosomi particolarmente grandi, ha riscontrato – come si è detto – notevoli somiglianze coi cromosomi metafasici della stessa specie zoologica dalla quale i cromosomi erano stati isolati. Perciò, in complesso, i filamenti sottili (cromonemi) sembrano essere immagini equivalenti a una condizione che, *in*

- ¹ H. RIS e A. E. MIRSKY, *Experim. Cell Research* 2, 263 (1951).
² E. POLLI, *The isolated chromosomes from erythrocytes of various species of Vertebrates*, *Chromosoma* (in stampa).
³ H. H. PFEIFFER, *Exper.* 9, 334 (1950).
⁴ G. YASUZUMI, *Chromosoma* 4, 222 (1951).
⁵ G. YASUZUMI *et al.*, *Chromosoma* 4, 359 (1951).
⁶ W. G. P. LAMB, *Exp. Cell Research* 1, 571 (1950).

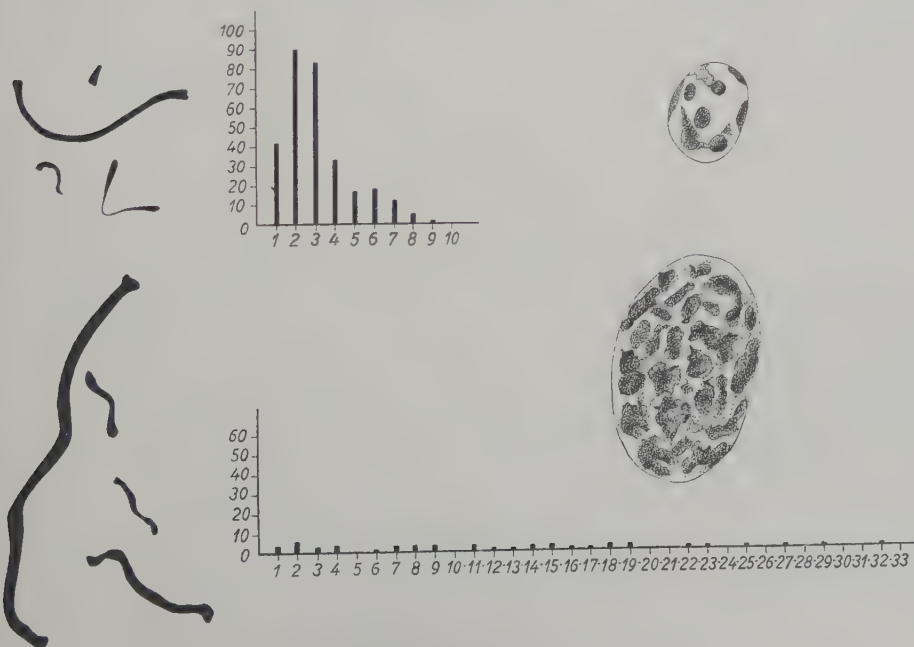


Fig. 2.^a. – Cromosomi isolati e struttura del nucleo di eritrociti nel pollo (in alto) e nell'Axolotl (in basso). – A sinistra: alcuni elementi tipici fra i cromosomi isolati dagli eritrociti. Al centro: distribuzione delle lunghezze in μ di un campione di cromosomi isolati (si noti la maggiore dispersione nell'Axolotl). – A destra: struttura del nucleo intero di eritrocita schiacciato e colorato al carminio acetico. Si noti che nell'Axolotl la cromatina riempie quasi del tutto il nucleo, mentre nel pollo essa appare ammassata in poche grandi zolle (da POLLI, *op. cit.*).

vivo, si avvicina probabilmente di più a quella dei cromosomi isolati: questo stato di cose, però, vale per le specie i cui cromosomi sono stati isolati. Restano moltissimi organismi tuttora inesplorati sotto questo punto di vista, ai quali non si sa se le stesse vedute siano generalizzabili. Un punto importante, ad esempio, che non si chiarisce, riducendo tutto il contenuto del nucleo ai soli cromosomi isolati, concerne i cromocentri. Nel genere *Drosophila* questi hanno un aspetto insieme citologicamente e geneticamente tipico (cioè rappresentano ammassi di cromatina compatta, quasi priva di geni principali, e vengono detti eterocromatici); in altri casi sussiste il criterio citologico, anche se con maggiori incertezze nell'attribuirvi il significato genetico ora ricordato. In alcuni esempi, però (anche fuori delle drosophile), sembra impossibile poter negare che il cromocentro o i cromocentri esistano anche *in vivo*, e non si contrappongano strutturalmente e morfologicamente ai cromosomi isolati. La relazione tra questi ultimi e i cromocentri, come pure una più esatta analisi dei caratteri differenziali fra cromosomi interfascici e mitotici, rappresentano i due più importanti obbiettivi della ricerca microscopica sulla cromatina; e quest'ultimo non solo per chiarire fino a che punto sia valido il concetto di despiralizzazione nell'interfase e spiralizzazione

nella mitosi, ma anche per stabilire la lunghezza effettiva dei cromosomi interfascici, cioè dei cromosomi durante la fase di attività genica. Molti aspetti della evoluzione degli assetti cromosomici potranno, infatti, essere chiariti da confronti fra la lunghezza dei cromosomi interfascici isolati di specie affini.

Summary

The author describes the consecutive steps in the investigation of the resting nucleus, and distinguishes a first approach using embedding and microtome technique, a second stage based on the preparation of smearings or squashes, and, thirdly, the isolation of chromatic threads (isolated chromosomes). The squash or smearing method reveals a number of different structures in different cell types and systematic species.

The question of the reliability of these structures is discussed with the following conclusions: no general model of the resting nucleus is available at the present time. In the material studied up to now with the technique of the chromosome isolation, the smeared nuclei seem to show structures which are useful for many purposes but not identical with the living structures, which are probably more closely related to the isolated chromosomes.

The isolated chromosomes, as compared with the mitotic ones, can provide new information on the spiralisation cycle, and on the length of the threads during the stage of genic activity.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. - Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. - Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. - The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Les théorèmes de Laplace sur les perturbations séculaires dans les éléments vectoriels des orbites planétaires

En utilisant les deux vecteurs

$$\begin{aligned} \mathfrak{C} &= [\mathbf{r} \mathbf{v}], & \mu &= f(M+m), \\ \mathfrak{D} &= [\mathbf{v} \mathfrak{C}] - \frac{\mu}{r} \mathbf{r} & |\mathfrak{C}| &= C; |\mathfrak{D}| = D; |\mathbf{r}| = r \end{aligned} \quad (1)$$

définissant dans le problème des deux corps un vecteur des aires \mathfrak{C} et un autre \mathfrak{D} situé dans le grand axe a avec le module $D = \mu e$, M. MILANKOVITCH¹ a traduit les équations de la mécanique céleste dans le langage du calcul vectoriel. Pour éviter les moyens de la théorie des perturbations, W. LENZ² avait déjà introduit ailleurs le «vecteur de l'axe» \mathfrak{D} dans le calcul des perturbations de l'électron d'hydrogène selon la théorie des quanta de BOHR.

¹ M. MILANKOVITCH, Bull. Acad. Sci. math. nat., Belgrade (1939).

² W. LENZ, Z. Physik 24, 197 (1924).

En remplaçant par les deux vecteurs \mathfrak{C} , \mathfrak{D} les variables canoniques de la mécanique céleste

$$h = e \sin \pi, \quad l = e \cos \pi; \quad p = \operatorname{tg} i \sin \Omega, \quad q = \operatorname{tg} i \cos \Omega,$$

on peut obtenir des valeurs aussi simples pour les expressions

$$\langle C_i C_j \rangle = \frac{\partial \mathbf{r}}{\partial C_i} \cdot \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial C_j} - \frac{\partial \mathbf{r}}{\partial C_j} \cdot \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial C_i} \quad (D_1 = C_4, D_2 = C_5, D_3 = C_6)$$

indépendantes du temps, nommées «les crochets de Laplace» des éléments canoniques, quoique les vecteurs fondamentaux eux-mêmes compliqués dépendent des nouveaux «vecteurs canoniques» \mathfrak{C} , \mathfrak{D} , c'est-à-dire

$$\begin{aligned} \mathbf{r} &= \frac{C^2}{\mu^2 - D^2} \cdot \frac{\mu \cos u - D}{D} \mathfrak{D} + \frac{C \sin u}{D \sqrt{\mu^2 - D^2}} [\mathfrak{C} \mathfrak{D}], \\ \mathbf{v} &= - \frac{\mu \sqrt{\mu^2 - D^2}}{C D} \cdot \frac{\sin u}{\mu - D \cos u} \mathfrak{D} \\ &\quad - \frac{\mu^2 - D^2}{C^2 D} \cdot \frac{\cos u}{\mu - D \cos u} [\mathfrak{C} \mathfrak{D}]. \end{aligned}$$

Les 2 · 3 composantes des vecteurs \mathfrak{C} , \mathfrak{D} correspondent

aux 6 éléments elliptiques des orbites. A cause de la relation de l'orthogonalité

$$(\mathfrak{C} \mathfrak{D}) = C_1 D_1 + C_2 D_2 + C_3 D_3$$

il n'y a que 5 éléments indépendants entre eux. C'est pourquoi on introduit un nouvel élément, comme le temps τ de périhélie donné par l'équation de Képler

$$(\mu^2 - D^2)^{3/2} \frac{1}{C^3} (t - \tau) = \mu u - D \sin u,$$

si bien que les crochets de Lagrange sont à construire à partir des 7 éléments $C_1, C_2, C_3, D_1, D_2, D_3, \tau$ qui se réduisent d'après MILANKOVITCH aux valeurs très simples

$$\begin{aligned} \langle C_1 C_2 \rangle &= \langle C_2 C_3 \rangle = \langle C_3 C_1 \rangle = \langle C_1 D_1 \rangle = \langle C_2 D_2 \rangle \\ &= \langle C_3 D_3 \rangle = \langle D_1 D_2 \rangle = \langle D_2 D_3 \rangle = \langle D_3 D_1 \rangle = 0; \\ \langle C_1 D_2 \rangle &= \langle D_1 C_2 \rangle = \frac{D_3}{D^2}; \quad \langle C_2 D_3 \rangle = \langle D_2 C_3 \rangle = \frac{D_1}{D^2}; \quad (2) \\ C_3 D_1 - D_3 C_1 &= \frac{D_2}{D^2}; \quad D_1 \tau - \frac{D_1}{C^2} - D_2 \tau = \frac{D_2}{C^2}; \\ \langle D_3 \tau \rangle &= \frac{D_3}{C^2}; \quad \langle C_1 \tau \rangle = \frac{\mu^2 - D^2}{C^4} C_1; \quad \langle C_2 \tau \rangle = \frac{\mu^2 - D^2}{C^4} C_2; \\ C_3 \tau &= \frac{\mu^2 - D^2}{C^4} C_3. \end{aligned}$$

Les crochets de Lagrange se retrouvent comme coefficients dans les équations différentielles des éléments perturbés

$$\sum_{j=1}^6 \langle C_i C_j \rangle \frac{dC_j}{dt} = \sum_{j=1}^6 \left(\frac{\partial \mathbf{r}}{\partial C_i} \cdot \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial C_j} - \frac{\partial \mathbf{r}}{\partial C_j} \cdot \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial C_i} \right) \frac{dC_j}{dt} = \frac{\partial R}{\partial C_i}, \quad (3)$$

équations qui résultent des deux conditions de Lagrange

$$\begin{aligned} \delta \mathbf{r} &= 0, \\ \delta \mathbf{v} &= (\text{grad} R) dt \end{aligned} \quad (4)$$

pour la variation des constantes du mouvement képlérien sans perturbations par rapport aux éléments des orbites dépendantes du temps, éléments osculatrices influencés par la fonction perturbatrice:

$$R = \sum_k j m_k \left(\frac{1}{\varrho_{ik}} - \frac{\mathbf{r}_{ik}}{r_k^3} \right)$$

(m_k planète perturbante, ϱ_{ik} vecteur de la distance $m_i - m_k$) dans le problème des n corps, si l'on néglige des perturbations d'ordre supérieur.

Au moyen des deux vecteurs \mathfrak{C} et \mathfrak{D} , le système (3) se transforme à cause de (2) dans les trois équations

$$\begin{aligned} \left[\mathfrak{D} \frac{d\mathfrak{C}}{dt} \right] - \frac{\mu^2 - D^2}{C^2} \cdot \frac{D^2}{C^2} \mathfrak{C} \frac{d\tau}{dt} + D^2 \text{grad}_{\mathfrak{C}} R &= 0, \\ \left[\mathfrak{D} \frac{d\mathfrak{D}}{dt} \right] - \frac{D^2}{C^2} \mathfrak{D} \frac{d\tau}{dt} + D^2 \text{grad}_{\mathfrak{D}} R &= 0, \\ \frac{d}{dt} \left(\frac{\mu^2 - D^2}{C^2} \right) &= 2 \frac{\partial R}{\partial \tau}. \end{aligned} \quad (5)$$

Pour simplifier les symboles, le nouveau vecteur de BILIMOVITCH¹

$$\text{grad}_{\mathfrak{A}} R = \frac{\partial R}{\partial A_1} u_1 + \frac{\partial R}{\partial A_2} u_2 + \frac{\partial R}{\partial A_3} u_3$$

(u_1, u_2, u_3 vecteurs d'unité) qui représente le gradient partiel d'un scalaire R se rapportant au vecteur \mathfrak{A} est introduit dans le système (5).

Grâce aux vecteurs \mathfrak{C} et \mathfrak{D} l'intégrale des forces vives dans le problème des deux corps peut se mettre sous la forme

$$T + U = -\frac{1}{2} \left(\frac{\mu^2 - D^2}{C^2} \right) = \frac{v^2}{2} - \frac{\mu}{r}$$

(U énergie potentielle, T énergie cinétique). La troisième équation du système (5) représente d'autre part la variation séculaire de l'énergie totale des constantes des énergies successives qui varient périodiquement entre les orbites osculatrices de la planète perturbée

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\mu^2 - D^2}{C^2} \right) = 0.$$

Ainsi résulte immédiatement des équations différentielles (5) concernant les variations des éléments vectoriels des orbites:

Lemme I: La fonction perturbatrice R est une indépendante séculaire du temps du passage de périhélie de la planète perturbée.

Par conséquent il est possible de déduire ce théorème classique sans développer la fonction perturbatrice en une série de Fourier

$$R = \sum F(a, a', e, e', i, i') \cos \{ (nt + \varepsilon) j + (n't + \varepsilon') j' + k\pi + k'\pi' + s\Omega + s'\Omega' \}$$

(j, k, s, j', k', s' nombres entiers, $\varepsilon = \pi - n\tau, a', e', i'$ éléments de la planète perturbante). On arrive pour l'ordinaire à la loi de la construction des membres trigonométriques où l'on conclue à la suppression de τ dans les grandeurs séculaires.

L'interprétation du lemme I donne le résultat: Le temps de périhélie τ correspond à la sixième composante C_6 non indépendante des autres C_1, C_2, C_3, C_4, C_5 . Mais cette suppression de τ est sans importance. Comme la théorie classique des perturbations l'a démontré, le temps de périhélie τ qui détermine la fréquence de révolution de l'orbite osculatrice képlérienne est une constante séculaire.

La relation

$$\frac{\mu^2 - D^2}{C^2} = \frac{\mu}{a}$$

donne immédiatement aussi le théorème II: Le grand axe $2a$ et à cause de la relation $\mu = n^2 a^3$ la fréquence de la révolution de la planète perturbée sont des invariables séculaires (LAPLACE, 1773).

J. O. FLECKENSTEIN

Institut d'Astronomie et de Météorologie pe l'Université de Bâle (Binningen), le 25 janvier 1952.

Zusammenfassung

Die Einführung geeigneter Vektoren von LENZ-MILANKOVITCH erlaubt, die Lagrangeschen Differentialgleichungen für die gestörten vektoriellen Bahnelemente der Planeten in eine Form zu bringen, aus welcher mittels des Energiesatzes die säkulare Unveränderlichkeit der grossen Halbachse (und damit der Umlauffrequenz) sowie die säkulare Unabhängigkeit der Störungsfunktion von der Perihelzeit des gestörten Planeten unmittelbar gefolgert werden kann.

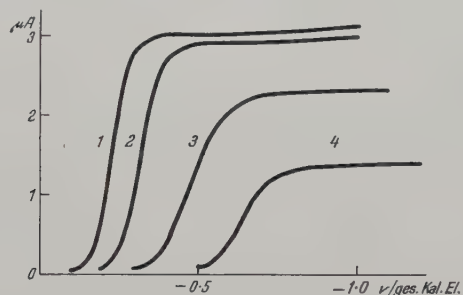
¹ A. BILIMOVITCH, Glas Akademije Beograd 128, 117 (1927) (en serbe, avec extrait en français).

Das polarographische Verhalten von Ti(III) und Ti(IV) in Äthylendiamintetraacetat¹

Das polarographische Verhalten von Ti(IV) in Tartrat und Zitrat als Trägerelektrolyt wurde von VANDENBOSCH² und in Oxalat von PECOK³ eingehend untersucht. Es wird durch das Auftreten von verschiedenen Komplexen und durch Abhängigkeit des Halbwellenpotentials vom pH und der Konzentration an Komplexbildner kompliziert.

Im Verlauf einer Untersuchung über die Polarographie von Schwermetallkationen in Äthylendiamintetraacetat (Y^{4-}) stellten wir fest, dass das Verhalten von Ti(III) und Ti(IV) in diesem Komplexbildner bei niederem pH besonders übersichtlich ist. Darüber soll im folgenden kurz berichtet werden.

Experimentelles. Die Messungen wurden mit einem manuellen Instrument durchgeführt, indem der Diffusionsstrom direkt mit einem empfindlichen Spiegelgalvanometer und die Spannung der Zelle (Hg/Ti-Komplex in Trägerelektrolyt/Agar-Agar 0,1 m NaClO₄/ges. Hg₂Cl₂-Elektrode) mit Hilfe eines Leeds-Northrup-Potentiometers, Typ K, gemessen wurde.



Alle Lösungen enthalten 10^{-3} Mol Titan, die erwähnten Mengen Gelatine sowie Neutralsalz, ausserdem: Kurve 1: $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l Na₂H₂Y und 0,1 Mol/l Glykokollpuffer, Kurven 2–4: $5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l Na₂H₂Y. Die pH-Werte sind: Kurve 1: 2,25, Kurve 2: 3,70, Kurve 3: 4,82, Kurve 4: 6,2.

Zur Unterdrückung der Maxima enthielten alle Lösungen 0,01% Gelatine.

Der Diffusionsstrom der kathodischen Welle des Ti(IV)-Komplexes bei pH 2,05 wurde bei 0,5 V gemessen, die Tropfzeit der Kapillare betrug 4,84 s und die Ausflussgeschwindigkeit 1,83 mg Hg/s bei einer Höhe der Hg-Säule von 66,2 cm, daraus berechnet sich $m^{2/3} t^{1/6} = 1,95 \text{ mg } t^{2/3} \text{ s}^{-1/2}$.

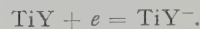
Diffusionsstromkonstante des Ti(IV)-Komplexes.

$c_{\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ Mol/l}$ $c_{\text{Glykokollpuffer}} = 0,1 \text{ Mol/l}$
 $c_{\text{Gelatine}} = 0,01\%$
 pH = 2,05
 $c_{\text{Ti(IV)}}$ variiert von $2 \cdot 10^{-5}$ bis 10^{-3} Mol/l
 $i_d/C m^{2/3} t^{1/6} = 1,53$

Verhalten bei niederen pH-Werten. Bei pH-Werten zwischen 1 und 2,5 liegt das Halbwellenpotential der Reduktionswelle des Ti(IV)-Komplexes (Kurve 1), unabhängig vom pH und der Konzentration an Komplexbildner bei $-0,22 \text{ V}$ gegen die ges. Hg₂Cl₂-Elektrode. Ti(III) bildet unter gleichen Bedingungen eine anodische Oxydationswelle mit identischem Halbwellenpotential und gleicher Stufenhöhe.

Der Reduktions-Oxydationsvorgang ist reversibel; trägt man ΔE gegen $\Delta \log(i/i_d - i)$ auf, so erhält man eine Gerade mit der Neigung $-0,064 \text{ V}$, entsprechend einer Einelektronenreduktion.

Diese Tatsachen machen folgende Redoxreaktion als Elektrodenvorgang wahrscheinlich:



Die gute Übereinstimmung der Diffusionsstromkonstante mit dem in hiesigen Laboratorium¹ gefundenen Wert (1,49 bei pH 3,4) für den Komplex FeY^- stützt diese Annahme.

Durch Dissoziation der Komplexe vermindert sich die Stufenhöhe in stark saurer Lösung; in 1 n, an H₄Y gesättigter Schwefelsäure ist die Reduktionswelle des Ti(IV)-Komplexes fast vollständig verschwunden.

Die Dissoziationskonstante des Komplexes TiY wurde aus der Abnahme der Stufenhöhe bei pH-Werten zwischen 0,5 und 2 und bekannter Konzentration an Komplexbildner mit Hilfe der von SCHWARZENBACH³ ermittelten Dissoziationskonstanten von H₄Y überschlagsmäßig berechnet, es ergab sich ein Näherungswert von $K_{\text{TiY}} = 2 \cdot 10^{-18}$.

Das Normalpotential des Systems Ti(III)-Ion/Ti(IV)-Ion liegt bei $-0,04 \text{ V}$ gegen die $n\text{-H}_2$ -Elektrode³, das Halbwellenpotential des TiY/TiY^- -Systems liegt bei $-0,22 \text{ V}$ gegen die ges. Hg₂Cl₂-Elektrode oder bei $+0,03 \text{ V}$ gegen die $n\text{-H}_2$ -Elektrode. Wenn wir den Einfluss der Ionenstärke vernachlässigen, so finden wir, dass der Komplex TiY^- etwas mehr als eine Zehnerpotenz stabiler ist als der Komplex TiY .

Verhalten bei höheren pH-Werten. Bei pH-Werten über 2,5 wird das Halbwellenpotential des Reduktionsvorganges abhängig vom pH und der Konzentration an Komplexbildner, die Welle wird irreversibel, und die Wellenhöhe nimmt stark ab (Kurven 2–4).

Für die Oxydationswelle des Ti(III)-Komplexes gilt qualitativ dasselbe, die Höhe und der reversible Charakter der Welle bleiben aber etwa eine pH-Einheit länger erhalten.

Dieses Verhalten wurde noch nicht systematisch untersucht; vermutlich werden Oxokomplexe, wie sie SCHWARZENBACH⁴ bei Aluminium, Eisen und Chrom feststellte, und, bei höherem pH, mehrkernige Komplexe gebildet, wobei dieser Übergang beim Ti(IV)-Komplex früher erfolgt als beim Ti(III)-Komplex.

Die Durchführung dieser Arbeit wurde durch ein Stipendium der Janggen-Pöhn-Stiftung (St. Gallen) sowie durch einen Beitrag aus Mitteln der Graduate School der University of Minnesota ermöglicht.

M. BLUMER⁵ und I. M. KOLTHOFF

School of Chemistry, University of Minnesota, Minneapolis, den 31. Dezember 1951.

Summary

Ti(III) and Ti(IV) form complexes, at pH values of under 2.5, with ethylene di-amino-tetra-acetate (Y^{4-})

¹ I. M. KOLTHOFF und C. L. AUERBACH, Amer. Soc. (1952), im Druck.

² G. SCHWARZENBACH und H. ACKERMANN, Helv. chim. acta 30, 1798 (1947).

³ I. M. KOLTHOFF und E. B. SANDELL, Textbook of Quantitative Inorganic Analysis (Verlag Macmillan, New York 1943), S. 483.

⁴ G. SCHWARZENBACH und W. BIEDERMANN, Helv. chim. acta 31, 459 (1948).

⁵ Gegenwärtige Adresse: Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel.

¹ Vorläufige Mitteilung.

² V. VANDENBOSCH, Bull. Soc. Chim. Belg. 53, 532 (1949).

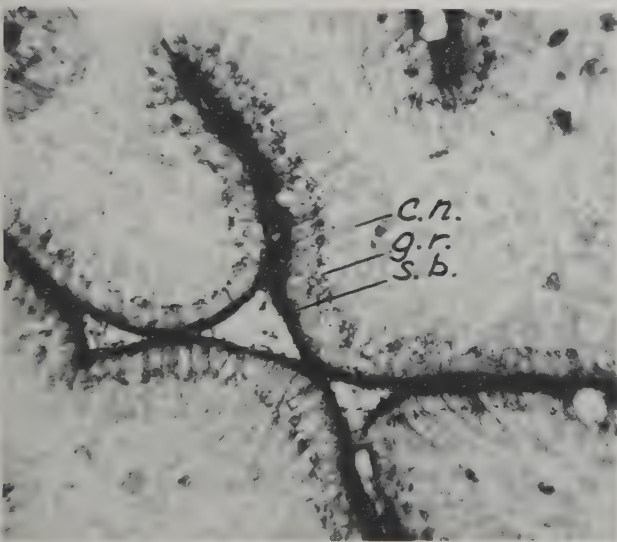
³ R. L. PECOK, Amer. Soc. 73, 1304 (1951).

with the probable formula TiY^- and TiY , which are reduced reversibly and independantly of pH at the dropping Hg-electrode. Temporary values are given for the dissociation constants. At higher pH values, the electrode processes are irreversible and dependant on pH. From this fact, and from the decrease in wave height, the presence of complexes containing oxygen and numerous nuclei is concluded.

A Modification of the Histochemical Method for Demonstration of Alkaline Phosphatase in which the Diffusion Phenomenon is Reduced

The method for histochemical demonstration of alkaline phosphatase presented by GOMORI¹ and TAKAMATSU² has been the object of a number of critical studies upon which modifications have been based.

The diffusion phenomena, first demonstrated by MARTIN and JACOBY³, are now generally considered to represent a serious objection to the method, inasmuch as the diffusion is thought to effect principally the cell nuclei which could thereby simulate phosphatase activity. Any possible original enzyme activity is thereby masked. For this reason, the question as to whether alkaline phosphatase exists at all in cell nuclei must remain unanswered. Cytochemical phosphatase determinations indicate that there is only minor activity in cell nuclei in liver, kidney, and intestine⁴.



Rat intestine (duodenum). Fixation: acetone. Stained for alkaline phosphatase. Personal modification. Incubated for 1 hour. Cobalt nitrate. Note that cell nuclei (c.n.) are not stained. g.r. = Golgi region. s.b. = striated border. 280:1.

A number of methods for the extraction of phosphatase make use of acetone in various concentrations. The major part of the enzyme is contained in the protein fraction which precipitates in the presence of 38 to 50 % acetone⁵.

Therefore, the effect of acetone in the incubation mixture has been studied with regard to diffusion, following MARTIN and JACOBY¹, using superimposed sections.

The diffusion observed by MARTIN and JACOBY¹ and others has been verified. This diffusion decreases with rising concentration of acetone in the incubation mixture, ceasing entirely at a concentration of 50%. However, at that concentration, the enzyme activity has diminished considerably, in part, because of lowered solvent effect upon the substrate. The optimal results, from this point of view, were obtained with an incubation mixture containing 40 % acetone concentration. Quantitative chemical controls show that this lowers the phosphatase activity by approximately 20 %. Histochemical controls show that no new nonspecific reactions arise.

Preparations made in this manner differ from those described earlier, in that phosphatase activity could not be shown in cell nuclei in liver, kidney, or intestine. No other deviations from the current conception concerning the localization of alkaline phosphatase in these tissues could be demonstrated.

On the basis of the aforementioned observations, a modification of the histochemical method for determining alkaline phosphatase is recommended. This involves incubation in the presence of 40 % acetone after deparaffination. Continuous controls must always be made.

The introduction of this modification lowers not only the solubility of the enzyme, but also that of calcium phosphate. In addition, the milieu in which the diffusion takes place is changed in that the protein of the tissue is further coagulated. The lack of the phosphatase reaction in the cell nuclei in the organs studied must not be interpreted as meaning that the enzyme is entirely absent there. It is possible that the nuclei contain enzyme in such low concentrations that the phosphate concentration there never becomes high enough for precipitation to occur unless phosphate or possibly enzyme diffuse from other places with higher enzyme concentration². A precipitation is then obtained through additive effect, but when the diffusion has been reduced, the necessary phosphate concentration is never attained.

B. FREDRICSSON

Histological Department, Karolinska Institutet, Stockholm, January 29, 1952.

Zusammenfassung

Die Diffusionsphänomene bei der histochemischen Phosphatasereaktion im alkalischen Gebiet können reduziert werden, wenn die Inkubationsmischung 40 % Azeton enthält. Dabei treten keine neuen unspezifischen Reaktionen oder eine grössere Inaktivierung des Enzyms auf.

¹ B. F. MARTIN and F. JACOBY, J. Anat. 83, 351 (1949).

² W. L. DOYLE, Am. J. Anat. 87, 79 (1950).

Sur la présence de pigments jaunes non caroténoïdes chez *Mucor hiemalis*

Mucor hiemalis (Phycomycète) est un très fort producteur de caroténoïdes¹. Comme *Phycomyces*², *Mucor hie-*

¹ G. GOMORI, Proc. Soc. Exp. Biol. 42, 23 (1939).

² H. TAKAMATSU, Trans. Soc. Path. Japan 29, 492 (1939).

³ B. F. MARTIN and F. JACOBY, J. Anat. 83, 351 (1949).

⁴ H. G. HERS, J. BERTHET, L. BERTHET, and CHR. DE DUVE, Bull. Soc. Chim. Biol. 33, 21 (1951).

⁵ M. A. M. ABUL-FADL, E. J. KING, J. ROCHE, and NGUYEN-VAN THOAI, Biochem. J. 44, 428 (1949).

¹ W. H. SCHOPFER, Bull. Soc. bot. Genève 20, 149 (1928).

² W. H. SCHOPFER et E. C. GROB, Exper. 6, 419 (1950). – E. C. GROB, G. G. PORETTI, A. V. MURALT et W. H. SCHOPFER, Exper. 7, 218 (1951).

malis peut utiliser l'acétate comme précurseur du carotène. Lors de l'isolement et de l'identification des caroténoïdes de *Mucor* après chromatographie sur $\text{Ca}(\text{OH})_2$, nous relevons au sommet de la colonne une première zone de pigments jaunes, très fortement adsorbée et dont l'élution est très difficile avec le mélange éther de pétrole + 5 % de benzol. Après chromatographie répétée sur Al_2O_3 , d'après BROCKMANN, nous avons pu, à l'aide du mélange éther de pétrole + 10 % d'éther sulfurique, obtenir trois zones séparées à partir de la zone primitive.

Ces pigments ne doivent pas être des caroténoïdes, la réaction de Carr-Price étant négative. La quantité de substance obtenue étant faible, nous nous sommes limités à l'établissement des spectres d'absorption. Les maxima d'absorption sont les suivants:

zone	couleur	maximum d'absorption $m\mu$		
1	jaune	400	350	330
2	orange-jaune	405	325	
3	orange	460	390	

(Spectrophotomètre de quartz, Beckman; substances en solution dans de la benzine optiquement pure.)

GOODWIN¹ vient de signaler un pigment chez *Phycomyces* qui semble voisin (maximum d'absorption 400 et 350 $m\mu$). Les recherches destinées à permettre l'identification de ces pigments continuent.

Ces recherches ont été effectuées avec l'appui de la «Fritz-Hoffmann-La-Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz», que nous remercions vivement.

E. C. GROB et F. VON BEUST

Institut botanique de l'Université de Berne, le 12 février 1952.

Summary

Mucor hiemalis synthesizes orange-yellow pigments which are not carotenoids. Absorption maxima are given.

¹ T. W. GOODWIN, Biochem. J. 50, 550 (1952).

Sur la biosynthèse du β -carotène par *Phycomyces* cultivé sur un milieu contenant de l'acétate de sodium comme unique source de carbone

La participation de l'acétate à la biosynthèse du β -carotène par *Phycomyces*¹ a été démontrée à l'aide d'acétate marqué par du ^{14}C dans le groupe CH_3 et le groupe COOH ². Le milieu nouveau utilisé était à base d'acétate de sodium et de lactate de NH_4 ; 69 % des atomes de C du carotène proviennent de l'acétate, le reste devant être attribué au lactate.

Dans le but de généraliser nos premiers résultats, nous avons constitué un milieu nouveau dont l'acétate est l'unique source de C.

En 1934³, nous avons établi qu'en présence de glucose, le NH_4NO_3 donnait lieu à un développement moyen du thalle, mais déterminait une intense carotinogénèse; les pigments étaient localisés surtout à l'extrémité des hyphes submergées, bourrées de globules gras colorés en jaune vif par les caroténoïdes. Répétant l'expérience avec de l'acétate remplaçant la glucose et du NH_4NO_3 , nous retrouvons les mêmes résultats.

¹ W. H. SCHOPFER et E. C. GROB, Exper. 6, 419 (1950).

² E. C. GROB, G. G. PORETTI, A. VON MURALT et W. H. SCHOPFER, Exper. 7, 218 (1951).

³ W. H. SCHOPFER, Arch. Mikrobiol. 5, 511 (1934).

L'analyse chromatographique et spectrographique atteste que le β -carotène, à nouveau, domine nettement.

Le tableau suivant indique les résultats obtenus.

Milieu*	Poids thalle mg	Carotène**
1° lactate NH_4	20,6	0
2° lactate NH_4 + acétate	45,7	0,787
3° lactate NH_4 + acétate + NH_4NO_3	51,3	0,854
4° acétate + NH_4NO_3 (avec MgSO_4) seul	11,1	1,995
5° acétate + NH_4NO_3 (avec MgSO_4 et MnSO_4)	8,9	2,323

* Tous les milieux contiennent en outre les sels minéraux (MgSO_4 et KH_2PO_4), ainsi que la vitamine B_1 .

** Coefficients d'extinction rapportés au carotène de 1 g/s de thalle dans 25 cm^3 d'éther de pétrole.

On constate que le taux relatif en carotène est particulièrement élevé dans les thalles provenant des milieux acétate- NH_4NO_3 . Une expérience en damier, exécutée avec des taux variables de nitrate d'ammonium et d'acétate de sodium, atteste qu'avec 1 % d'acétate, la dose de 0,12 % de NH_4NO_3 suffit à assurer le développement maximum compatible avec nos conditions d'expérience.

Le milieu acétate- NH_4NO_3 a un pH initial de 6; au cours de la culture il s'alcalinise jusqu'à 8. Des expériences effectuées en milieux tamponnés (tampons KH_2PO_4 et NaOH) attestent que la production de carotène est plus forte sur les milieux neutres et alcalins (pH 7 et 8) que sur milieu acide (pH 6).

Il est donc bien démontré que, dans notre cas, l'acétate est le précurseur essentiel et unique du carotène de *Phycomyces*. La fixation de CO_2 de l'air peut être évoquée, mais n'est pas démontrée.

Ces recherches ont été effectuées avec l'appui de la «Fritz-Hoffmann-La-Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz», que nous remercions vivement.

W. H. SCHOPFER et E. C. GROB

Institut botanique de l'Université de Berne, le 12 février 1952.

Summary

On a medium containing sodium acetate and NH_4NO_3 , *Phycomyces* synthesizes carotene abundantly. Acetate, as the only source of carbon, acts as precursor of carotene.

Atmungsversuche mit submersem Schüttelmyzel des Wurzelpilzes *Mycelium Radicis atrovirens* in der Apparatur nach von Euler, Myrbäck und Nilsson

Untersuchungen über den Stoffwechsel der Schimmelpilze mit Hilfe homogener Suspensionen von submersem Schüttelmyzel wurden zum erstenmal durch KLUYVER und PERQUIN¹ ausgeführt. Sie studierten die Kojisäurebildung durch *Aspergillus flavus* sowie die Produktion von Zitronensäure und Glukonsäure in Kulturen von *Aspergillus niger*. Bezüglich der weiteren Verwendung

¹ A. J. KLUYVER und L. H. C. PERQUIN, Biochem. Z. 266, 68, 82 (1933). – L. H. C. PERQUIN, Bijdrage tot de kennis der oxydatieve dissimilatie van *Aspergillus niger* van Tieghem (Diss. Delft 1938).

dieser Methode in Laboratoriumsversuchen sowie in halb- und grosstechnischem Massstab auf dem Gebiete der oxydativen Säuregärungen der Schimmelpilze und der mikrobiologischen Eiweiss- und Fettsynthese verweisen wir auf die zusammenfassenden Darstellungen von PRESCOTT und DUNN¹, FOSTER² sowie BERNHAUER und RAUCH³.

Zahlreiche Forscher sind der Ansicht, dass die Vertreter verschiedener ökologischer Gruppen der Bodenpilze (mykorrhizabildende und die Rhizosphäre bewohnende sowie endoparasitische Pilze der Wurzeln der Waldbäume, streuzersetzen Pilze usw.) durch einen sehr hohen Sauerstoffbedarf gekennzeichnet sind. In den Untersuchungen über das Wachstum dieser Pilze erfolgte die Impfung der flüssigen Substrate deshalb bisher mit Agarstückmyzel, das auf der Oberfläche der betreffenden Nährlösung schwimmend verblieb. WIKÉN und Mitarbeiter⁴ konnten nun aber zeigen, dass sich Vertreter der erwähnten Pilzgruppen als submerses Myzel sowohl in Ruhe- als auch in Schüttelkulturen ohne Schwierigkeiten züchten lassen. In diesem Zusammenhang schien es uns von Bedeutung zu sein, die O₂-Aufnahme durch das Myzel eines Wurzelpilzes experimentell festzustellen. Als Versuchsobjekte wählten wir dabei zwei Stämme von *Mycelium Radicis atrovirens*.

Die Pilze wurden in einem Ammontartrat-Glukose-Medium⁵ submers in Schüttelkulturen nach der Methode von WIKÉN und SOMM⁶ gezüchtet. Die O₂-Aufnahme des Myzels wurde volumetrisch mit Hilfe der Apparatur nach von EULER, MYRBÄCK und NILSSON⁷ gemessen. Als Gefässe dienten dabei Erlenmeyerkolben aus Pyrexglas von 100 cm³ Fassungsvermögen. Diese waren mit einem zylindrischen Einsatz versehen, welcher die zur Absorption des Respirationskohlendioxydes verwendete Kalilauge enthielt. Die Versuche wurden in Luft mit 20 cm³ Flüssigkeit pro Gefäss durchgeführt. Die Schüttelfrequenz betrug je 90 Hin- und Herbewegungen pro Minute und die Temperatur 25°C.

In den Tabellen I–III wird die O₂-Aufnahme des Myzels in Kubikzentimeter, umgerechnet auf Normalbedingungen (0°C und 76 cm Hg), pro Milligramm Myzeltrockensubstanz und Stunde angegeben.

In einigen Versuchen wurde die O₂-Aufnahme in der gleichen Nährlösung gemessen, welche als Substrat zur Züchtung des betreffenden Myzels gedient hatte, indem der Inhalt der Kulturkolben unter sterilen Bedingungen in die mit Einsatz versehenen Respirationskolben vorsichtig umgeschüttet wurde. Dadurch gelang es uns, die O₂-Aufnahme des intakten submersen Schüttelmyzels von *Mycelium Radicis atrovirens* für eine bestimmte Wachstumsphase im Ammontartrat-Glukose-Medium festzustellen. Die Ergebnisse eines typischen Versuches mit 7 Tage alten Kulturen sind in Tabelle I wiedergegeben. Aus den Einzelwerten lässt sich eine O₂-Aufnahme

von durchschnittlich $2,10 \cdot 10^{-2}$ ($\delta = 0,05 \cdot 10^{-2}$) cm³/mg Myzeltrockensubstanz und Stunde berechnen.

Tabelle I

Kolben Nr.	Myzeltrockensubstanz mg	pH	O ₂ -Aufnahme = $n \cdot 10^{-2}$
1	18,4	4,00	$n = 2,070$
2	20,4	3,84	2,166
3	26,8	3,78	2,021
4	27,1	3,52	2,130

Stamm «Melin». Versuchsdauer = 410 Minuten.

Atmungsversuche wurden ferner mit steril gewaschenem Schüttelmyzel durchgeführt. Die von der Kulturflüssigkeit abgeschleuderten Myzelkugeln wurden dabei durch zweimaliges Aufschwemmen in destilliertem Wasser und Abzentrifugieren von den Resten des alten Substrates befreit. Wie aus Tabelle II hervorgeht, zeigte das so behandelte Myzel in destilliertem Wasser und in einer Lösung von primärem Kaliumphosphat eine Eigenatmung von der gleichen Grösse wie die Atmung in dem zur Züchtung des Myzels verwendeten Ammontartrat-Glukose-Substrat (Tabelle I). Es ist ferner ersichtlich, dass eine Veratmung der Bernsteinsäure durch quantitative Bestimmung der O₂-Aufnahme des gewaschenen Schüttelmyzels in einer Lösung dieser Säure bzw. in destilliertem Wasser oder Phosphatlösung nicht nachgewiesen werden kann. Die pro Milligramm Myzeltrockensubstanz und Stunde aufgenommene O₂-Menge war in allen Fällen gleich gross (vgl. FOSTER¹, S. 70).

Tabelle II

Versuch Nr.	O ₂ -Aufnahme = $n \times 10^{-2}$		
	Destilliertes Wasser pH = 5,24–5,54	0,067 M KH ₂ PO ₄ pH = 4,86–4,94	0,160 M Bernsteinsäure- Natriumsukzinat pH = 4,92–5,00
1	$n = 1,98$ ($\delta = 0,02$)	–	1,85 ($\delta = 0,11$)
2	2,37 ($\delta = 0,12$)	1,97 ($\delta = 0,11$)	1,98 ($\delta = 0,08$)

Stamm «Melin». Myzeltrockensubstanz = 10,9–27,0 mg pro Gefäss. Versuchsdauer = 266–380 Minuten. Anzahl Parallelen = 2–3.

Angeichts der grossen Eigenatmung des gewaschenen Myzels wurden Versuche durchgeführt, jene Reservestoffe, welche leicht veratmet werden, aus den Hyphen zu entfernen. Die in Schüttelkulturen gewonnenen submersen Myzelkugeln wurden dabei abgeschleudert und in 0,067 M KH₂PO₄-Lösung (pH = 4,4–4,7) aufgeschwemmt. Die Suspension wurde während 48 Stunden bei 25°C geschüttelt (Frequenz = je 50–60 Hin- und Herbewegungen pro Minute, Amplitude = 15 cm). Nach Abzentrifugieren wurde das Myzel in einer angemessenen Menge 0,067 M KH₂PO₄-Lösung suspendiert und auf die Respirationsgefässe möglichst gleichmässig verteilt. Diese wurden dann über Nacht geschüttelt und unmittelbar vor dem Atmungsversuch mit dem zu untersuchenden Substrat (Bernsteinsäure, Glukose usw.) versetzt. Tabelle III zeigt die Ergebnisse einiger typischer Respirationsexperimente mit «verarmtem» Myzel. Die Kolben enthielten in sämtlichen Fällen 15 cm³ 0,067 M KH₂PO₄-

¹ S. C. PRESCOTT und C. G. DUNN, *Industrial Microbiology* (Mc Graw-Hill Book Co., New York 1940).

² J. W. FOSTER, *Chemical Activities of Fungi* (Academic Press Inc., New York 1949).

³ K. BERNHAUER und J. RAUCH, *Biochem. Z.* 319, 77, 102 (1948).

⁴ T. WIKÉN, H. G. KELLER, C. L. SCHELLING und A. STÖCKLI, *Exper.* 7, 237 (1951). – T. WIKÉN und H. SOMM, *Exper.* 8, 110 (1952).

⁵ T. WIKÉN, H. G. KELLER, C. L. SCHELLING und A. STÖCKLI, *Exper.* 7, 237 (1951). – C. L. SCHELLING, *Zur Kenntnis der Physiologie von *Mycelium Radicis atrovirens* Melin mit besonderer Berücksichtigung der Verwertbarkeit verschiedener Kohlenstoffquellen* (Diss. ETH., Zürich 1952).

⁶ T. WIKÉN und H. SOMM, *Exper.* 8, 110 (1952).

⁷ R. NILSSON, *Die Methoden der Fermentforschung* (hg. von BAMANN und MYRBÄCK) 3, 2150 (1941).

¹ J. W. FOSTER, *Chemical Activities of Fungi*, (New York 1949).

Tabelle III

Versuch Nr.	O ₂ -Aufnahme = $n \cdot 10^{-2}$				
	Destilliertes Wasser pH = 4,78–5,38	0,056 M Glukose pH = 4,62–5,10	0,056 M Bernsteinsäure- Natriumsukzinat pH = 4,58–5,30	0,056 M Fumarsäure- Natriumfumarat pH = 4,66–5,20	0,056 M Zitronensäure- Natriumzitrat pH = 4,80–5,06
1	$n = 0,16$ ($\delta = 0,01$)	0,97 ($\delta = 0,00$)	—	—	—
2	0,22 ($\delta = 0,02$)	1,09 ($\delta = 0,02$)	0,64 ($\delta = 0,00$)	—	—
3	0,25 ($\delta = 0,02$)	0,89 ($\delta = 0,08$)	—	—	—
4	0,19 ($\delta = 0,02$)	0,87 ($\delta = 0,05$)	—	—	—
5	0,11 ($\delta = 0,06$)	0,94 ($\delta = 0,01$)	1,01 ($\delta = 0,06$)	—	—
6	0,19 ($\delta = 0,02$)	0,94 ($\delta = 0,02$)	—	0,71 ($\delta = 0,03$)	—
7	0,12 ($\delta = 0,01$)	1,04 ($\delta = 0,02$)	1,33 ($\delta = 0,09$)	1,65 ($\delta = 0,02$)	1,00 ($\delta = 0,05$)

Stamm «Melin» in Versuch 1, Stamm «Levisohn» in den Versuchen 2–7. Myzeltrockensubstanz = 9,6–71,2 mg pro Gefäss. Versuchsdauer = 330–520 Minuten. Anzahl Parallelen = 2–6.

Lösung und 5 cm³ Substratlösung bzw. destilliertes Wasser. Es ist ersichtlich, dass die oxydative Dissimilation der Glukose, Bernsteinsäure, Fumarsäure und Zitronensäure durch Messungen der O₂-Aufnahme des «verarmten» Myzels verfolgt werden kann, indem die O₂-Mengen, welche der Pilz auf diesen Substraten pro Zeiteinheit verbraucht, 3–10mal grösser sind als die bei der Eigenatmung aufgenommenen Mengen.

Die von uns für intaktes Myzel von *Mycelium Radicis atrovirens* so festgestellte O₂-Aufnahme ist von der gleichen Grössenordnung wie die Respiration, welche von GOULD und TYTELL¹ für ein auf mechanischem Wege zerteiltes Myzel eines *Fusarium*-Stammes bestimmt wurde. Der O₂-Verbrauch dieses Myzels betrug 0,57 bis $3,95 \cdot 10^{-2}$ cm³/mg Trockensubstanz und Stunde.

Professor Dr. E. MELIN, Institut für physiologische Botanik, Uppsala, stellte uns wohlwollend einen der untersuchten Stämme von *Mycelium Radicis atrovirens* zur Verfügung. Den von LEVISOHN isolierten Stamm bezogen wir vom «Centraalbureau voor Schimmelcultures», Baarn.

Die Untersuchungen werden aus dem Fonds zur Förderung der Wald- und Holzforschung sowie vom Eidg. Institut für das forstliche Versuchswesen unterstützt.

T. WIKÉN und H. SOMM

Institut für landwirtschaftliche Bakteriologie und Gärungsbiologie, Eidg. Techn. Hochschule, Zürich, den 26. November 1951.

Summary

The oxygen uptake of two strains of *Mycelium Radicis atrovirens* was measured volumetrically in the respirometer apparatus of VON EULER, MYRBÄCK and NILSSON. The vessels employed were 100 cm³ Erlenmeyer flasks with center cup containing the solution of potassium hydroxide used for absorption of carbon dioxide. The mycelium was grown in a submerged state in shaking cultures according to the method of WIKÉN and SOMM. The oxygen consumption of the growing young mycelium in a glucose-ammonium tartrate medium amounted to about 2×10^{-2} cm³ per milligram of dry weight per hour. The respiratory activity of the washed mycelium in distilled water or phosphate buffer was equal to that shown by the intact mycelium in its actual culture medium. The high autorespiration (endogenous respiration) thus observed was reduced appreciably by starvation for 48 hours in phosphate buffer under aerated conditions. The autorespiration of the starved mycelium amounted to $0.1-0.3 \times 10^{-2}$ cm³ per milligram of dry

weight per hour, whereas its oxygen uptake in solutions of glucose, succinate, fumarate, and citrate was equal to $0.6-1.7 \times 10^{-2}$ cm³.

Die Wirkung des Adrenalins über den Wassertransport durch die Haut von *Rana esculenta*

Das Adrenalin bewirkt, wenn es im inneren Medium zugegen ist, eine Inversion der Richtung des Wassertransportes, so dass dieser von innen nach aussen stattfindet, wenn das äussere Medium isotonisch ist, während es jeglichen Transport behindert, wenn das äussere Medium hypotonisch ist (Wasser)¹.

Dieses Verhalten findet eine befriedigende Erklärung in der Annahme, dass in beiden Fällen das Adrenalin den aktiven Wassertransport von aussen nach innen unterbricht und einen aktiven Transport von innen nach aussen auslöst; dieser Transport von innen nach aussen wird durch den passiven entgegengesetzten Transport unsichtbar, wenn das äussere Medium hypotonisch ist. Die obige Hypothese findet ihre Bestätigung in den folgenden Tatsachen.

Die absolute Wasserdiffusion durch die isolierte Rückenfroshaut ändert sich nicht in wahrnehmbarer Weise, wenn im inneren Medium Adrenalin zugegen ist; das heisst, dass die durch das obengenannte Hormon verursachte Veränderung im Nettowassertransport durch die Froshhaut wahrscheinlich nicht die Folge einer veränderten passiven Permeabilität dem Wasser gegenüber ist, sondern die Folge einer Veränderung des aktiven Wassertransportes in einer bestimmten Richtung.

Zur Bestimmung der absoluten Wasserdiffusion von aussen nach innen benutzten wir als Indikator das Deuteriumoxyd. Die Schwerwasserkonzentration wurde mit der Sapirsteinschen Methode² bestimmt; die molarprozentige Schwerwasserkonzentration ($x\%$) wurde folgendermassen berechnet:

$$x\% = \frac{1 - \frac{d_0}{c d'_1 [1 + 3\beta(t - t_0)]}}{\left(\frac{M_2}{M_1} \cdot \frac{d_1}{d_2} - 1\right) \frac{d_0}{c d'_1 [1 + 3\beta(t - t_0)]} - \left(\frac{M_2}{1} - 1\right)} \cdot 100$$

¹ V. CAPRARO und M. TIENGO, Rend. Acc. naz. Lincei, Cl. Sci. fis. mat. nat. 10, 416 (1951).

² L. SAPIRSTEIN, J. Lab. Clin. Med. 357, 93 (1950).

¹ B. S. GOULD und A. A. TYTELL, J. Gen. Physiol. 24, 655 (1941).

Nettowassertransport mg/cm ² -Stunde: + von aussen nach innen, – von innen nach aussen		Absolute Wasserdiffusion ml/cm ² -Stunde von aussen nach innen	
Inneres Medium Ringerlösung Äusseres Medium NaCl 6,5‰	Inneres Medium Ringer- lösung + Adrenalin HCl 10 ^{–5} Äusseres Medium NaCl 6,5‰	Inneres Medium Ringerlösung Äusseres Medium NaCl 6,5‰ in H ₂ O + D ₂ O	Inneres Medium Ringer- lösung + Adrenalin Cl 10 ^{–5} Äusseres Medium NaCl 6,5‰ in H ₂ O + D ₂ O
+ 3,48 ± 1,12 m ± 0,40 n = 8	– 4,76 ± 2,85 m ± 1,16 n = 6	0,258 ± 0,032 m ± 0,019 n = 3	0,285 ± 0,017 m ± 0,008 n = 6

m ± = Wahrscheinliche Abweichung des mittleren Wertes.

± = Wahrscheinliche Abweichung des einzelnen Wertes.

n = Zahl der Experimente.

wobei t_0 die Temperatur bezeichnet, bei welcher der Schwimmer im gewöhnlichen Wasser sich vom Boden löst; t ist die Temperatur, bei welcher der Schwimmer in der unbekannten D_2O -Lösung emporsteigt, d_0 ist die Densität des gewöhnlichen Wassers bei Temperatur t_0 , d_1 die Densität des gewöhnlichen Wassers bei Temperatur t , d_2/d_1 ist das Verhältnis zwischen der Densität von D_2O und H_2O bei Temperatur t , M_2/M_1 ist das Verhältnis zwischen den 2 entsprechenden Molekulargewichten, 3β ist der volumetrische Dilatationskoeffizient des Pyrexglases ($= 10^{-5}$) und $c = 0,999984$.

Wenn wir als äusseres Medium eine D_2O -Lösung benutzen (3,5–5 %) und mit C_0^1 und C_2 die D_2O -Konzentration des äusseren Mediums am Anfang des Experimentes und nach einer Stunde bezeichnen, kann man die absolute Wasserdiffusion von aussen nach innen in ml/Stunde (a_{21}) mit der folgenden Formel berechnen:

$$C_2 = \frac{C_0^1}{1 + \frac{V_0^1}{V_0^2}} + \left(C_0^2 - \frac{C_0^1}{1 + \frac{V_0^1}{V_0^2}} \right) e^{-\frac{V_0^1 + V_0^2}{V_0^1 V_0^2} a_{21}}$$

wobei V_0^1 und V_0^2 die Volumina des inneren bzw. des äusseren Mediums sind.

Um die obige Gleichung abzuleiten, setzten wir voraus:

- a) dass die Wasserdiffusion während des Experimentes konstant sei;
- b) dass die Wasserdiffusion in beiden Richtungen als gleich betrachtet werden kann.
- c) dass man ohne grossen Fehler die Tatsache unbeachtet lassen kann, dass immer ein Gleichgewicht zwischen D_2O und H_2O besteht und dass die prozentige molare D_2O -Konzentration nicht ganz identisch ist mit der prozentigen volumetrischen D_2O -Konzentration.

Es wurden auf diese Weise die Werte der absoluten Wasserdiffusion von aussen nach innen, unter dem Einfluss des Adrenalins im inneren Medium, gesammelt (Tabelle).

Neben der Bestimmung der absoluten Wasserdiffusion von aussen nach innen haben wir auch den Nettowassertransport in derselben Richtung, unter dem Einfluss des Adrenalins im inneren Medium, bestimmt.

Das Verfahren, welches wir zur letzteren Bestimmung befolgten, ist schon veröffentlicht worden¹.

Alle Experimente wurden an Fröschen durchgeführt, die im selben Monat gefangen worden waren.

¹ V. CAPRARO und M. TIENGO, l. c.

Die restlichen hier wiedergegebenen Werte sind schon veröffentlichten Arbeiten entnommen¹.

Aus der Tabelle kann man ableiten, dass das Adrenalin die absolute Wasserdiffusion durch die Froschhaut nicht ändert und dass somit die Wirkung des Adrenalins auf den Nettowassertransport nicht einer Änderung der Wasserpermeabilität bei einem Diffusionsprozess zuzuschreiben ist, sondern einer Änderung des aktiven Wassertransportes¹.

Wir danken den Herren Prof. G. BOLLA und Ing. M. SILVESTRI vom CISE in Mailand, die uns das D_2O zur Verfügung stellten und uns für die Technik mit ihrem Rate beistanden.

V. CAPRARO und J. FRANCESCHINI²

Biologisches Laboratorium des Institutes «C. Erba» für therapeutische Forschungen, Mailand, und Institut für allgemeine Physiologie, Urbino, den 16. Januar 1952.

Riassunto

Vengono riportati dei dati sul passaggio assoluto di acqua attraverso la cute di *Rana esculenta* sotto l'influenza dell'Adrenalina; questi dati sono stati ottenuti con l'aiuto del Deuterio come indicatore.

Da essi viene confermata l'ipotesi che l'Adrenalina non modifica la permeabilità passiva all'acqua, ma solo il trasporto attivo.

¹ V. CAPRARO und M. TIENGO, l. c.

² Mit der Hilfe von F. POY, Chemotechniker.

On the Desoxyribonucleic Acid Content of Sea Urchin Gametes¹

The far-reaching biological effects of the union between a sperm cell and an egg cell have prompted many investigations of the quantitative distribution of various components of these cells and especially of their nuclei. In view of the remarkable proportionalities, first suggested by the work of BOIVIN *et al.*² as characteristic of the desoxypentose nucleic acid (D.N.A.) contents of haploid and diploid nuclei of a species, it is not surprising

¹ This report is from a dissertation to be submitted by DAVID ELSON in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in the Faculty of Pure Science, Columbia University.

² A. BOIVIN, R. VENDRELY, and C. VENDRELY, C. r. Acad. Sci. Paris 226, 1061 (1948).

that much interest has centered on this nuclear constituent.

Recent reports have indicated that the D.N.A. content of the unfertilized sea urchin egg exceeds that of the sperm cell of the same species by more than a hundred-fold. The following values may be quoted from the literature (in 10^{-6} micrograms per single cell). (1) On the basis of phosphorus distribution¹: *Arbacia*² sperm, about 21 to 30; egg, 700 to 1000. *Arbacia punctulata* egg³, 90. (2) On the basis of the reaction of desoxy sugar with diphenylamine⁴: *Arbacia aequituberculata*⁵ sperm, 0.7; egg, 220. *Paracentrotus lividus* sperm⁶, 0.67. It is probable that methods of this type, when applied to biological material of such low D.N.A. content as the egg, yield extremely questionable results, mainly owing to their lack of specificity and to the interference by substances other than those assayed.

In the present study, an attempt was made to investigate the problem by a different and more specific method, namely, a microbiological assay of thymine. An *E. coli* mutant (American Type Culture Collection No. 11117⁶), kindly supplied by Dr. R. R. ROEPKE of the American Cyanamid Company, Stamford, Connecticut, that required thymine for growth, formed the basis of the assay. The organism used here was a variant isolated by Dr. S. ZAMENHOF from cultures of this mutant. When cultivated on the synthetic medium specified by ROEPKE⁷, to which DIFCO Proteose Peptone No. 3 had been added in a 0.02% concentration, the growth response of this organism, greater than that of the parent mutant, was proportional to the concentration of the thymine supplement over a limited range (0.04 to 0.25 μ g of thymine per cubic centimetre of medium). Unpublished work by P. L. FITZGERALD and S. ZAMENHOF in this laboratory has disclosed no other growth-promoting substances; but certain purine and pyrimidine compounds, at relatively large concentrations, were found to inhibit multiplication.

The biological materials studied were sperm cells and unfertilized eggs of the sea urchin *Paracentrotus lividus*⁸. After preliminary separation of the acid-soluble, lipid, pentose nucleic acid and D.N.A. fractions⁹, the D.N.A. portion was further purified by three extractions at 90° with 7% trichloroacetic acid¹⁰. After the hydrolysis of the lyophilized extract with conc. formic acid (98–100%)¹¹, the mixture was evaporated and the residue washed with ether and then extracted four times with water. The combined aqueous extracts are designated as hydrolysate in the following discussion. When a pure D.N.A. preparation or a fraction rich in D.N.A., whose thymine content had been determined accurately by paper chro-

matography and spectrophotometry¹, was subjected to the same fractionation procedure, similarly prepared hydrolysates were found to contain about 80% of the thymine present in the starting material.

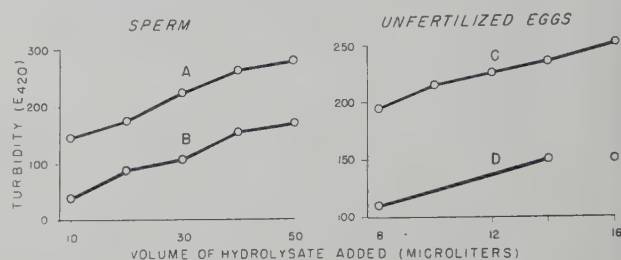


Fig. 1.—Each point represents optical density (at 420 m μ) of the bacterial culture in one tube containing (1) 0.4 cm³ basal medium; (2) an aliquot of the hydrolysate assayed for thymine, the volumes being plotted as the abscissa; (3) an aliquot of an aqueous solution containing pure thymine in the following amounts per tube: A, 0.0430 γ ; B, 0.0215 γ ; C, 0.0784 γ ; D, 0.0588 γ ; (4) dist. water to final volume of 0.50 cm³.

Each tube was inoculated with one drop of a 24 h nutrient broth culture of the *E. coli* mutant, diluted 10,000 times with physiological saline. In each assay, a third set of tubes from which the inoculum was omitted served as optical blanks for the turbidity measurements in the microcell attachment of the Beckman spectrophotometer. The cultures were incubated at 37°: A and B for 24 h, C and D for 15 h. Two intermediate points of curve D were lost by accident and a third (16 μ l) was ignored in computing the results. One cm³ of the hydrolysate represented 0.0439 mg of dry sperm (containing a total of 6.85 γ D.N.A.) and 150.4 mg of dry eggs (containing a total of 16.4 γ D.N.A.).

Since the hydrolysates prepared from the eggs contained unidentified substances causing partial inhibition of growth, the assays were conducted in a manner designed to diminish errors due to inhibitory or synergistic effects of substances other than thymine. The arrangement is exemplified in Figure 1 which shows both a thymine determination in sperm and the best assay of an egg hydrolysate. As can be seen, different aliquots of the hydrolysates were assayed, after the addition of known amounts of thymine, in two series, each at a different level of thymine concentration. When the turbidity of the bacterial culture (expressed as E₄₂₀) is plotted against the volume of the hydrolysate added, two parallel straight lines of positive slope should be obtained, affording a criterion of the validity of the assay. The differences in readings for adjacent points on the same curve are averaged to give the turbidity due to a known volume of hydrolysate. The differences between corresponding points on the two curves give the turbidity due to a known amount of thymine acting in the presence of whatever extraneous substances were introduced with the hydrolysate. Owing to the sensitivity of the method, a complete assay can be carried out with a hydrolysate containing a total of about 0.3 μ g of thymine.

The thymine values so obtained were multiplied by 1.25 to correct for losses during the preparation and converted to values for total D.N.A. by multiplication with a factor of 8.2, derived from the detailed analysis of pure D.N.A. isolated from *Paracentrotus lividus* sperm in this laboratory². Direct cell counts of sperm were made with an improved Neubauer hemocytometer. The lyophilized egg preparations could not be subjected to counting.

¹ G. SCHMIDT and S. J. THANNHAUSER, J. Biol. Chem. 161, 83 (1945).

² G. SCHMIDT, L. HECHT, and S. J. THANNHAUSER, J. Gen. Physiol. 31, 203 (1948).

³ R. K. CRANE, Biol. Bull. 93, 192 (1947). — Calculations based on R. BALLENTINE, J. Cell. Comp. Physiol. 15, 121 (1940).

⁴ Z. DISCHE, Mikrochemie 8, 4 (1930).

⁵ C. VENDRELY and R. VENDRELY, C. r. Soc. Biol. 143, 1386 (1949).

⁶ R. R. ROEPKE and F. E. MERCER, J. Bact. 54, 731 (1947).

⁷ R. R. ROEPKE, R. L. LIBBY, and M. H. SMALL, J. Bact. 48, 401 (1944).

⁸ We are greatly indebted to Prof. J. RUNNSTRÖM and Dr. T. GUSTAFSON of the Wenner-Gren Institute of Experimental Biology, University of Stockholm, for these preparations.

⁹ G. SCHMIDT and S. J. THANNHAUSER, J. Biol. Chem. 161, 83 (1945).

¹⁰ W. C. SCHNEIDER, J. Biol. Chem. 161, 293 (1945).

¹¹ E. VISCHER and E. CHARGAFF, J. Biol. Chem. 176, 715 (1948).

¹ E. VISCHER and E. CHARGAFF, J. Biol. Chem. 176, 703 (1948).

² E. CHARGAFF, R. LIPSHITZ, and C. GREEN, J. Biol. Chem. 195, 155 (1952).

A figure of 4500 eggs per milligram of dried *Paracentrotus* was derived from data provided by ÖHMAN¹ and GUSTAFSON (private communication).

Paracentrotus sperm was analyzed by three independent methods, namely, by means of the microbiological assay described here, by the colorimetry of the reaction product with diphenylamine, and, most accurately, by the quantitative determination of the individual purines and pyrimidines² after the hydrolysis of the D.N.A. fraction with concentrated formic acid. The values found, as 10⁻⁶ µg D.N.A. per sperm cell, were, respectively, 1.0, 1.1, 1.0. This corresponds to a D.N.A. content of 15 % of the dry weight.

The thymine content of *Paracentrotus* eggs was so low (corresponding to a D.N.A. content of about 0.01 % of the dry weight) that only the microbiological assay could be employed; and even with this method the results are subject to some uncertainty. Five assays of two batches of unfertilized eggs, collected at different times, gave an average value of 28 × 10⁻⁶ µg of D.N.A. per egg. The most reliable individual determination corresponded to a D.N.A. content of 24 × 10⁻⁶ µg per egg. No significant difference between the two batches was observed.

The D.N.A. contents of the nuclei of sea urchin gametes are unknown, nor can the contribution by the polar bodies be estimated. When the sperm and egg analyses reported here are compared, it appears not unlikely that in sea urchin eggs D.N.A. is not limited to the nucleus. Indications of the existence of extranuclear D.N.A. in eggs have been reported recently³. What should, however, be stressed is that the differences in the D.N.A. contents of whole egg and of sperm recorded in the present study are of a less dramatic order of magnitude than those reported for sea urchins by other workers. It is obvious that the problem of the D.N.A. analysis of biological materials low in this constituent can hardly be solved in a general manner, before better methods become available⁴.

This work has been supported by research grants from the National Institutes of Health, United States Public Health Service, and the Rockefeller Foundation.

D. ELSON⁵ and E. CHARGAFF

Cell Chemistry Laboratory, Department of Biochemistry, College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York 32, N. Y., January 22, 1952.

Résumé

Nous avons déterminé les quantités d'acide désoxyribonucléique contenues dans les spermatozoïdes et les œufs

¹ L. O. ÖHMAN, Arkiv Zool. [A] 36, No. 7 (1944).
² E. VISCHER and E. CHARGAFF, J. Biol. Chem. 176, 703, 715 (1948). — E. CHARGAFF, E. VISCHER, R. DONIGER, C. GREEN, and F. MISANI, J. Biol. Chem. 177, 405 (1949). — E. CHARGAFF, R. LIPSHITZ, C. GREEN, and M. E. HODES, J. Biol. Chem. 192, 223 (1951). — Compare also E. CHARGAFF, Exper. 6, 201 (1950); J. Cell. and Comp. Physiol. 38, suppl. 1, 41 (1951); Federation Proc. 10, 654 (1951).
³ F. SCHRADER, Science 114, 486 (1951). — H. L. FRAENKEL-CONRAT, W. H. WARD, N. S. SNELL, and E. D. DUCAY, J. Am. Chem. Soc. 72, 3826 (1950). — H. L. FRAENKEL-CONRAT and E. D. DUCAY, Biochem. J. 49, XXXIX (1951).
⁴ Note added in proof.—A microbiological assay of desoxyribosides and its application to their estimation in frog's eggs have come to our attention after the submission of this paper: E. HOFF-JØRGENSEN, Biochem. J. 50, 400 (1952). — E. HOFF-JØRGENSEN and E. ZEUTHEN, Nature 169, 245 (1952).
⁵ U. S. Public Health Service Research Fellow.

vierges de l'oursin *Paracentrotus lividus*. Ces déterminations, faites au moyen d'une méthode microbiologique pour le dosage de la thymine, ont donné les résultats suivants: sperme 1,0 × 10⁻⁶, œuf environ 25 × 10⁻⁶ µg d'acide désoxyribonucléique par cellule.

Zur Frage der Begleitstoffe in gonadotropen Hormonpräparaten

Es gibt eine Gruppe von Substanzen vom Charakter der Mucopolysaccharide, die von gewissen bakteriellen Enzymen und der «enzymatischen Komponente» der Viren der Influenzagruppe gespalten werden. Solche Stoffe können als Inhibitoren der Virus-Hämagglutination (HIRST) funktionieren und durch Einwirkung von «receptor destroying enzyme» (RDE.), einem Produkt von *Vibrio cholerae*, oder beim Kontakt mit Influenzavirus diese inhibitorische Eigenschaft einbüßen. Stoffe, wie Ovomucin¹, Francis Inhibitor (= unspezifischer Serum-inhibitor der Influenzavirus-Hämagglutination²), Blutgruppensubstanzen, Ovarialzystenschleim³, Serumgonadotrophin⁴, diverse Urinextrakte⁵, gelten deshalb als dem enzymatischen Abbau zugänglich. Im Falle des ⁴ Ovomucins sind auch Abbauprodukte schon beschrieben worden⁶.

Tabelle I

Inhibitorische Wirksamkeit verschiedener Harnextraktstoffe und gonadotroper Hormonpräparate gegen die Virus-Hämagglutination

Inhibitor	Inhibitionstiter, reziproke Verdünnungswerte
Extrakt aus Schwangerenharn: 400 Hormon-E/mg	64000
Extrakt aus Schwangerenharn: 750 E/mg	512000
Extrakt aus Harn klimakterischer Frauen, 200 E/mg	128000
Extrakt aus Männerharn	128000
Präparat aus Stutenserum: 200 E/mg	< 1000
Präparat aus Schafshypophysen .	< 1000

Hemmung von 4 Hämagglutinationsdosen von erhitzter (30 min auf 56°C) PR8-Influenzavirus-Allantoisflüssigkeit gegen 0,8% Hühnererythrozyten.

In unseren chemischen Laboratorien von BENZ nach dem gleichen Verfahren gewonnene Harnfraktionen wurden auf ihre virus-hämagglutinationshemmende Wirkung untersucht, da nach dem auch für die Gewinnung gonadotropen Hormons geeigneten Verfahren vermutet werden konnte, dass sie mucopolysaccharidartige Stoffe enthalten könnten. Tabelle I zeigt, dass eine Reihe dieser Fraktionen stark hemmend auf die Influenzavirus-Hämagglutination wirken. Gonadotrop hormonal wirk-same Harnpräparate unterscheiden sich hierin nicht von

¹ F. M. BURNET, Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. 27, 245 (1949).
² F. M. BURNET, J. F. MCCREA und S. G. ANDERSON, Nature 160, 404 (1947).
³ F. M. BURNET, J. F. MCCREA und S. G. ANDERSON, Nature 160, 404 (1947). — W. T. J. MORGAN, Nature 153, 759 (1946).
⁴ W. K. WHITTEN, Nature 163, 534 (1949).
⁵ J. TAMM und F. L. HORSFALL, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74, 108 (1950).
⁶ A. GOTTSCHALK und P. E. LIND, Nature 164, 232 (1949). — A. GOTTSCHALK, Nature 167, 845 (1951).

Tabelle II

Veränderung der Eigenschaften von Schwangerenharneextrakt durch RDE.-Behandlung

Harnextrakt	Virus-Hämagglutination: 4 Hämagglutinationsdosen werden gehemmt durch c)	Hormonaktivität: einer internationalen Einheit entsprechend d)	Leukozytotaktischer Effekt: e)		
			+	±	0
Unbehandelt a)	26 γ	~ 1,5 γ	3 γ	0,6 γ	0,1 γ
Behandelt mit RDE. b) . .	800 γ	6 γ	3 γ	0,6 γ	0,1 γ

a) Hormonpräparat 5390/471 in Ca-Boratpuffer-NaCl-Lösung.

b) Hormonpräparat wie a) + RDE. 20%. Kontaktzeit Hormon + RDE.: 3 h auf 37°C. Herstellung des RDE. nach BURNET und STONE¹: Agarfiltrat von *Vibrio cholerae*, Stamm Ogawa; Titer 1:620. Für die Hämagglutinationsproben wurden die Reaktionsgemische 30 min auf 65°C erhitzt zur Inaktivierung des RDE. Das verwendete RDE.-Präparat zeigt für sich allein keine Wir-

kung auf Uterusgewicht und Leukozytenwanderung.

c) PR8-Influenza-Virus; Allantoisflüssigkeit in physiologischer NaCl-Lösung, 30 min lang auf 56°C inaktiviert.

d) Juvenile Ratten. Applikation: Gesamtdosis verteilt auf täglich 2 Dosen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen. Uterusgewichtsbestimmung.

e) Gemäss R. MEIER und B. SCHÄR¹.

hormonal unwirksamem Männerharnextrakt. Andererseits kommt die Virus-Rezeptor-Eigenschaft nicht allen gonadotrop wirksamen Hormonpräparaten zu, wie aus dem Vergleich mit dem nur niedrigen Hemmtiter der Hormonpräparate von anderer Herkunft als Urin (Stutenserum und Schafshypophysen) hervorgeht. Der Hemmtiter solcher Stutenserum- oder Hypophysenpräparate schwankt je nach Provenienz der Produkte (gewöhnliche Handelspräparate), doch standen alle von uns geprüften Präparate mit ihrer virus-hämagglutinationshemmenden Aktivität deutlich hinter den aus Harn gewonnenen Fraktionen zurück.

Auf Grund dieser Befunde lag die Annahme nahe, dass die Virus-Substrat-Eigenschaft der gonadotropen Präparate auf Begleitstoffen beruhen könnte.

MEIER und SCHÄR¹ haben andersartige Wirkungen, die den aus Urin gewonnenen gonadotropen Hormonpräparaten anhaften, aufgefunden. Sie konnten zeigen, dass im Urin Schwangerer neben dem gonadotropen auch ein *in vitro* wirksames Prinzip mit anlockender und beweglichkeitsfördernder Wirkung auf die weissen Elemente des Blutes vorhanden ist. Die Wirkung dieser Stoffe wird im Gegensatz zur Hormonwirkung durch Hitzebehandlung nicht beeinträchtigt. Aus diesem Grunde nahmen die obigen Autoren die Anwesenheit besonderer Begleitstoffe an.

Während die Virus-Rezeptor-Eigenschaft einheitlich allen hier geprüften Harnextraktpräparaten zukommt, fanden MEIER und SCHÄR nur einzelne der hormonal wirksamen Fraktionen aktiv im Leukozytenversuch.

Diese Beobachtungen ermöglichten die Frage der besonderen Natur der wirksamen Stoffe in den aus Urin hergestellten Hormonpräparaten so zu analysieren, dass der Stoff dem enzymatischen Abbau unterworfen und festgestellt wird, welche Veränderungen seine verschiedenen Eigenschaften dadurch erfahren. So prüften wir einen gonadotropen Extrakt aus Schwangerenharne vor und nach Kontakt mit RDE. auf seine Hormonaktivität und seine Wirkung auf die lokomotorische Reaktion der Leukozyten und die Hemmung der Virus-Hämagglutination. Wir stellten fest (Tab. II), dass die Hormonaktivität dadurch relativ wenig (etwa auf ein Viertel)³, die leuko-

taktische Wirkung gar nicht beeinträchtigt wurde. Die gleiche Probe zeigte hingegen eine Einbusse in der agglutinationshemmenden Aktivität auf ein Dreissigstel. Auf Grund dieser Ergebnisse möchten wir vorläufig feststellen, dass die Unterschiedlichkeit der RDE.-Empfindlichkeit dieser drei Wirkungstypen eine weitere Stütze für die Annahme sein kann, dass in Harnextraktstoffen ein Gemisch verschiedener, chemisch wohl nahe verwandter Wirkstoffe vorliegt. Des weiteren ergibt sich daraus die Möglichkeit, an solchen Stoffen durch enzymatischen Abbau einzelne Wirkfaktoren herauszuarbeiten.

FR. KRADOLFER, B. SCHÄR und R. MEIER

Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba, Aktiengesellschaft, Basel, den 1. November 1951.

Summary

Substances obtained from urinary extracts were investigated for their inhibitory effect on virus hemagglutination (HIRST), and a comparison was made with the gonadotropic hormone activity of these substances. No clear-cut parallelity between these characteristics was demonstrable. An urinary extract substance was further tested both prior to and subsequent to contact with the virus receptor destroying enzyme (R.D.E.), for the three established properties, hormonal activity, leucocytotactic effect and influenza-virus-receptor characteristics. R.D.E. did not affect these three properties to the same degree. These results support the assumption that urinary extracts represent a mixture of chemically closely related substances.

¹ R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 7, 308 (1951).Über Aktivierung von Cholinesterasen durch Alkylphosphate *in vivo*¹

Nach durch Alkylphosphate, wie DFP. (Diisopropyl-Fluorophosphat), Parathion, Pestox III (Bis-bis-Dimethyl-amino-Phosphorsäureanhydrid) und TEPP (Tetraäthylpyrophosphat), *in vivo* bewirkter Hemmung verschiedener Cholinesterasen (ChE) verstreicht meist ein Zeitraum

¹ F. M. BURNET und J. D. STONE, Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. 25, 227 (1947).² R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 7, 308 (1951).³ Die Werte für die gonadotrope Wirksamkeit verdanken wir Herrn Professor W. SCHULER.¹ Vorläufige Mitteilung.

von mehreren Tagen¹, bis die ChE sich wieder regeneriert und 100prozentige Aktivität zeigt. Im folgenden sollen einige Untersuchungen mitgeteilt werden, welche mit den Alkylphosphaten *Pestox III*, *Pestox XIV* (Bis-Dimethyl-amino-Fluorphosphinoxid), *Pestox XV* (Bis-Monoisopropylamino-Fluorphosphinoxid) und *Parathion* (*p*-Nitrophenyl-Diäthylthiophosphat) durchgeführt und über längere Zeiträume ausgedehnt wurden, wobei nach eingetretener Wiederherstellung unter Umständen lang dauernde Steigerung in der Aktivität von ChE gefunden werden konnte.

Es wurde die ChE-Aktivität von Erythrozyten, Plasma, Gehirn und Leber an 57 Meerschweinchen und von Erythrozyten und Plasma bei 4 Ratten (hierbei nach Blutentnahme aus dem Schwanz) bestimmt. Verwendet wurde die manometrische Methode nach AMMON², Substrat war 0,05% Acetylcholin-Cl; Plasma, welches 1prozentiges «Heparin BDH.» enthielt, und hämolysierte Erythrozyten wurden 1:20 verdünnt, Hirn und Leber nach POTTER³ bei Verdünnung 1:5 homogenisiert und dann auf 1:20 weiter verdünnt. Gesamt-CO₂ in Kubikmillimeter für 5 Viertelstunden minus den Werten für nicht enzymatische Hydrolyse, Karbonanhydrase (Erythrozyten) und Glykolyse (Leber und Gehirn) wurden zum Ausgangspunkt für die Ermittlung der prozentuellen Abweichungen nach Behandlung mit verschiedenen Dosen der angegebenen Substanzen genommen. Die Alkylphosphate wurden in wässriger Lösung (bzw. bei 10 mg Parathion/kg in Emulsion) i.p. injiziert. Abweichungen über 15% sind statistisch gesichert.

Pestox III, einmal 10 mg/kg, ruft nach 24 Stunden eine 39%ige Steigerung der Gehirn-ChE hervor (Abb. 1), nach 48 Stunden ist die Aktivität normal.

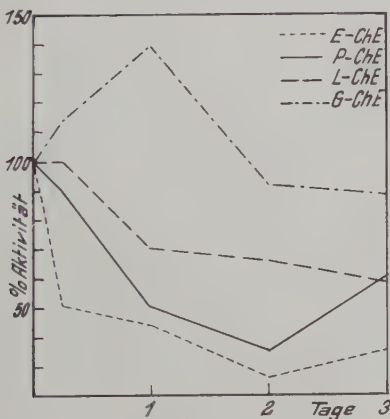


Abb. 1. *Pestox III* 10 mg/kg. E-ChE: Erythrozyten-ChE, P-ChE: Plasma-ChE, L-ChE: Leber-ChE, G-ChE: Gehirn-ChE.

Nach *Pestox XIV*, einmal 1 mg/kg (Abb. 2), nimmt innerhalb von 3 Tagen die zunächst über 80% gehemmte Plasma-ChE-Aktivität wieder zu; die Gehirn-ChE, welche nach 1 Tag die stärkste Hemmung aufweist, ist nach 3 Tagen über 30% gesteigert, in ähnlicher Weise die Leber-ChE. *Pestox XV*, einmal 10 mg/kg (Abb. 3),

ruft (Versuche an Ratten) nach 4 Tagen eine Steigerung der Erythrozyten-ChE hervor, welche nach 7 Tagen beinahe 40% erreicht und nach 11 Tagen verschwunden ist, während die Plasma-ChE, welche zuerst wesentlich

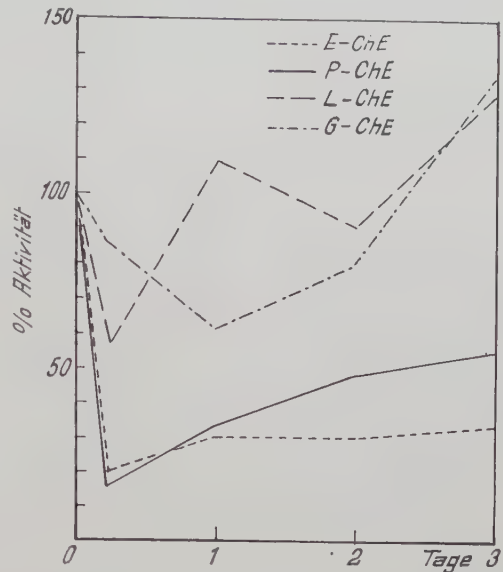


Abb. 2. *Pestox XIV* 1 mg/kg. E-ChE: Erythrozyten-ChE, P-ChE: Plasma-ChE, L-ChE: Leber-ChE, G-ChE: Gehirn-ChE.

stärker als die Erythrozyten-ChE gehemmt erscheint, nach 7 Tagen nur eine Erhöhung von 22% erfährt. *Parathion* lässt nach drei verschiedenen Dosierungen (Abb. 4-6) eine schnell eintretende und langdauernde Steigerung der Plasma-ChE erkennen; auch die Gehirn-

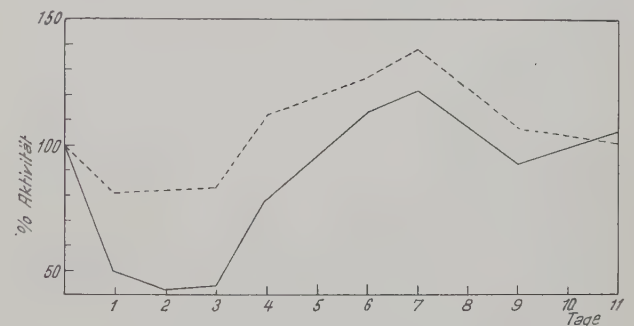


Abb. 3. *Pestox XV* 10 mg/kg.

ChE steigt bei 1 mg/kg nach vorangegangener Hemmung am 2. Tag zu etwa 30% an (Abb. 5), während Leber- und Erythrozyten-ChE auch bei niedriger Dosierung keine der Hemmung nachfolgende Aktivierung zeigen.

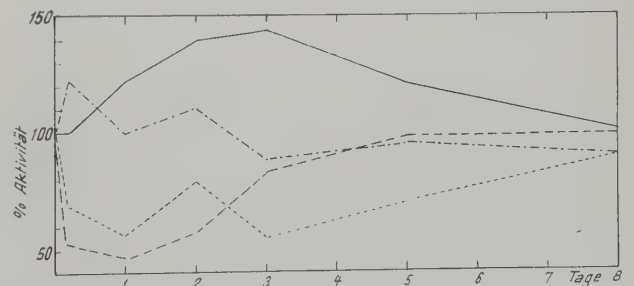


Abb. 4. *Parathion* 10 mg/kg.

¹ C. HEYMANS und H. CASIER, Exper. 4, 75 (1948). – A. M. FREEDMAN, A. WILLIS und H. E. HIMWICH, Amer. J. Physiol. 157, 80 (1949). – K. P. DuBOIS, J. DOULL, P. R. SALERNO und J. M. COON, J. Pharmacol. exp. Ther. 95, 79 (1949). – K. P. Du BOIS, J. DOULL und J. M. COON, J. Pharmacol. exp. Ther. 99, 376 (1950). – F. HOBBERGER, Brit. J. Pharmacol. 6, 21 (1951).

² R. AMMON, Pflügers Arch. 233, 486 (1933).

³ V. R. POTTER und C. A. ELVEHJEM, J. Biol. Chem. 114, 495 (1936).

Nach verschiedenen *In-vivo*-Beeinflussungen, wie grossem Blutverlust, anaphylaktischem Schock, experimenteller Verbrennung oder Erfrierung sowie nach Chloroformvergiftung, wurde eine bisweilen beträchtliche Zunahme von Serum-ChE gefunden¹. Da dieselbe aber in der Leber gebildet wird², muss ursächlich für die

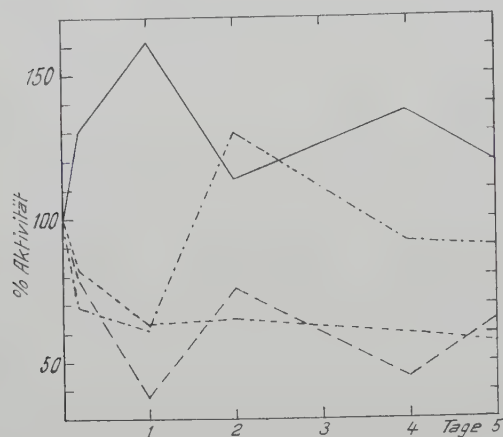


Abb. 5. Parathion 1 mg/kg.

beobachtete Aktivitätssteigerung angenommen werden, dass die Bildung oder Abgabe des Fermentes verstärkt ist oder dass aus der Leber und auch anderen Geweben Aktivatoren der ChE bzw. Stoffe, welche Inaktivatoren hemmen, vermehrt ins Blut abgegeben werden (SCHÜMMELFEDER³). In solchen Fällen kann aber auch vermutet

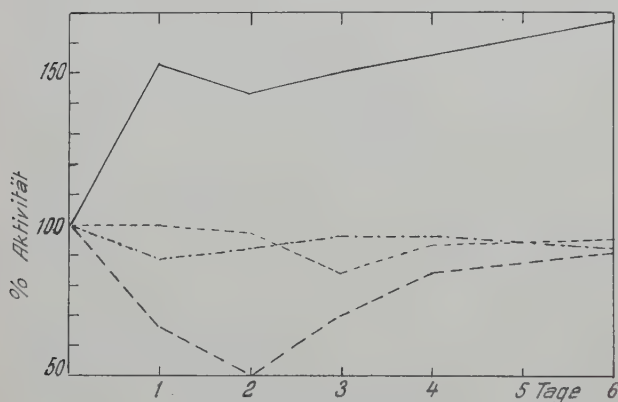


Abb. 6. Parathion 0,1 mg/kg.

werden, dass die ChE-Aktivität der Bildungsstätte selbst ebenfalls erhöht ist. Wenn von den Alkylphosphaten ein Teil zerstört⁴ oder ausgeschieden wird⁵ und nur mehr geringe Konzentrationen übrigbleiben, könnten diese ebenso wie die erwähnten Noxen stimulierend auf die Bildungsstätten der ChE wirken bzw. die Aktivität

vorhandener ChE steigern, wie es *in vitro* für verschiedene Substanzen und auch für ein Alkylphosphat selbst gezeigt werden konnte¹. Hierbei scheint eine gewisse spezifische Wirkung vorzuliegen, indem Parathion anscheinend Plasma-ChE stimuliert, während Pestox XV Plasma- und Erythrozyten-ChE (letztere in stärkerem Maße), Pestox XIV Gehirn- und Leber-ChE und Pestox III im untersuchten Zeitraum Gehirn-ChE bevorzugt in aktivierendem Sinne angreifen. Die Ursache für diese Verschiedenartigkeit der Wirkung wird wahrscheinlich vor allem in der Verteilung der Substanzen im Organismus zu suchen sein. Auch dürfte das unterschiedliche Verhalten von Plasma-ChE und Erythrozyten-ChE nach Parathion *in vivo* und *in vitro* (in letzterem Fall sind Plasma- und Erythrozyten-ChE stark gehemmt²) in ähnlicher Weise zu erklären sein wie die Unterschiede zwischen *In-vivo*- und *In-vitro*-Wirkung bei TEPP (HOBBIGER³ und Pestox III⁴).

Pestox III, XIV und XV sowie Parathion wurden uns vom Chemical Research Dept. Pest Control Ltd., Harston, Cambridge, zur Verfügung gestellt. Für Acetylcholin schulden wir der Firma Hoffmann-La Roche, Basel, Dank.

A. LOCKER und H. SIEDEK

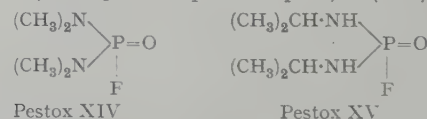
I. Medizinische Klinik der Universität Wien, den 1. Oktober 1951.

Summary

Various alkylphosphates show in certain doses by application *in vivo* a stimulating effect on the cholinesterase activity of plasma, erythrocytes, liver and brain respectively. These effects might be due to a different distribution of the alkylphosphates in the body and a stimulatory effect of low concentrations on the new formation or the activity of the enzymes.

¹ E. KEESER, Klin. Wschr. 17, 1811 (1938). – V. GROSSMANN und B. KASALICKY, C. r. Soc. Biol. 144, 93 (1950). – E. FROMMEL, A. D. HERSCHBERG und J. PIQUET, C. r. Soc. Phys. Hist. nat. Genève 60 (in Arch. Sci. phys. nat. 25) 97 (1943). – K. B. AUGUSTINSSON, Cholinesterases (Stockholm 1948). – A. LOCKER und H. SIEDEK (unveröffentlicht). – A. TODRICK, K. P. FELLOWES und J. P. RUTLAND, Biochem. J. 48, 360 (1951).

² D. GROB, Bull. Johns Hopkins Hosp. 87, 95 (1950).



³ F. HOBBIGER, Brit. J. Pharmacol. 6, 21 (1951).

⁴ A. LOCKER und H. SIEDEK, Mh. Chem. (im Druck).

Mise en évidence et estimation de la Catalase sanguine¹

La catalase sanguine détruirait H_2O_2 dès sa formation au cours des processus d'oxydation et protégerait ainsi les cellules contre la nocivité que possède ce peroxyde dès qu'il atteint une certaine concentration. D'autre part, suivant KEILIN², quand la pression d'oxygène est très basse, la catalase serait susceptible d'intervenir directement dans les oxydations et jouer un rôle autre que celui de diastase de protection.

Le procédé ci-après décrit met en évidence une activité catalasique du sérum frais, aseptiquement prélevé

¹ Le terme «catalase» est employé ici pour déterminer tout ferment susceptible de décomposer les peroxydes.

² M. POLONOWSKY, Biochimie Médicale, III^e éd. (Masson, Paris) p. 666.

¹ M. PIROLI, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 17, 437 (1942). – F. HEIM, Klin. Wschr. 24/25, 115 (1946). – N. SCHÜMMELFEDER, Arch. exp. Path. Pharm. 204, 466, 567 (1947). – A. D. ACRUZ und F. B. PEREIRA, C. r. Soc. Biol. 144, 1573 (1950).

² M. FABER, Acta med. Scand. 114, 72 (1943). – CH. H. SAWYER und J. W. EVERETT, Amer. J. Physiol. 148, 675 (1947). – M. F. HARRISON und L. M. BROWN, Biochem. J. 48, 151 (1951).

³ N. SCHÜMMELFEDER, Arch. exp. Path. Pharm. 204, 466, 567 (1947).

⁴ A. MAZUR, J. Biol. Chem. 164, 271 (1946).

⁵ D. HOFMANN-CRENER und H. SIEDEK, Arch. int. Pharmacodyn. (im Druck).

et ne présentant pas d'hémolyse. Nous nous bornons à en indiquer le mode opératoire que nous avons établi, nous abstenant d'interpréter la fonction catalasique que nous dosons. Signalons toutefois qu'en règle générale les huit premiers tubes de la série dénotent l'activité catalasique rencontrée chez des sujets réputés normaux.

Nous avons également expérimenté sur du sérum de lapin, dont la catalase était relativement élevée, et avons établi que le foie et le rein du même animal accusaient, à poids égal, une activité catalasique de vingt-cinq fois supérieure à celle donnée par le sérum, la rate, les poumons, les surrénales et le muscle strié.

Une série de lapins accusèrent une augmentation passagère de leur catalase sanguine à la suite d'injection de tétrachlorure de carbone provoquant l'altération du foie. Dans la suite, l'intoxication s'étendant vraisemblablement, la teneur de la catalase sanguine s'abaisse à des niveaux extrêmes. Tout se passe comme si la présence d'un organe producteur de catalase et non touché par l'injection du toxique compensait la déficience du foie, momentanément du moins. Cette compensation, si l'on s'en réfère aux travaux de THEORELL¹, pourrait être opérée par la moelle osseuse, les centres de formation de la catalase devant être respectivement la moelle osseuse et le foie, la première étant celle qui fournirait la catalase du sang circulant.

De même des sérums à Takata-Ara très positifs accusent souvent un net glissement à gauche de l'index catalasique. Enfin, dans une étude relative au parallélisme qui existe chez l'animal entre l'activité de sa catalase et un régime carencé en azote, NORA BARGONI² établit une diminution de cette activité.

Lors de la mise en œuvre du procédé de détection de la catalase, on se mettra à l'abri d'erreurs certaines introduites par l'usage de sérums vieux ou non stériles, l'action catalasique pouvant se perdre par la conservation ou être simplement due à la présence de catalase microbienne.

On opérera dans du matériel rigoureusement propre et stérilisé, non rugueux et traité régulièrement au mélange chromique. Les pipettes seront bouchées au coton afin d'éviter l'introduction de salive dans les tubes à réaction.

On évitera également d'opérer sur des sérums présentant de l'hémolyse. A ce propos nous citons BROCC-ROUSSEU et ROUSSEL³ qui, moyennant une récolte de sérum indemne de fautes de technique: «*agitation pendant la coagulation, présence d'eau dans les conserves, hémolyse par contamination, retard apporté à la décantation du sérum, etc.*», considèrent que le sérum ne doit pas contenir d'hémoglobine décelable qui pourrait fausser les résultats par son pouvoir catalasique propre.

«*Lorsque le sérum a été obtenu par coagulation et par un repos suffisamment prolongé, il devient impossible d'y déceler la présence de traces donnant les colorations caractéristiques des oxydases, des peroxydiastases, ou d'autres corps liés à ce groupe de substances ou de propriétés. Pourtant les réactifs dont nous disposons pour ces réactions colorées sont d'une extrême sensibilité et nous n'avons jamais pu déceler chimiquement la présence d'hémoglobine dans le sérum avec une sensibilité de 1/10 000.*»

Nous opérons sur des sangs prélevés en tubes à centrifuger, centrifugés à vitesse moyenne dans le même tube après rétraction du caillot, décantés et recentrifugés en l'absence du caillot et négatifs à la benzidine.

¹ H. THEORELL, *Jama* 1020 (1950).

² NORA BARGONI, *Exper.* 7, 104 (1951).

³ D. BROCC-ROUSSEU et G. ROUSSEL, *Le sérum normal* (Masson, Paris 1934), p. 191.

Réactifs nécessaires

1° Solution Tampon.

Solution A: KH_2PO_4 sec. 2,27 g.

Eau bidistillée ad 100 cm³.

Solution B: Na_2HPO_4 sec. 2,97 g.

Eau bidistillée ad 100 cm³.

Ces solutions sont conservées séparément en glacière. Au moment de l'emploi on mélange 3 cm³ de A avec 10 cm³ de B.

2° Acide Sulfurique; Normalité 1/3.

3° Solution de Rivanol à 1%.

4° Solution de NaNO_2 N/10 à 6,9 g/100.

On la titre par KMnO_4 N/10.

Une solution de KMnO_4 normale oxyde, volume à volume, une solution demi-molaire de HNO_2 .

Par suite de la volatilité de l'acide nitreux on verse dans une burette la solution de nitrite et on la fait couler dans une quantité déterminée de KMnO_4 N/10 chauffée à 40° après avoir dilué celle-ci à 400 cm³ et acidulé par 30 cm³ de H_2SO_4 au tiers.

$2 \text{KMnO}_4 + 5 \text{HNO}_2 + 3 \text{H}_2\text{SO}_4 = \text{K}_2\text{SO}_4 + 2 \text{MnSO}_4 + 5 \text{HNO}_3 + 3 \text{H}_2\text{O}$. On conservera la solution de nitrite à la glacière. Durée de conservation: un mois.

5° Solution de Perhydrol à 1%.

On prépare cette solution en diluant, lors de l'emploi, 1 cm³ de Perhydrol ad 100 cm³ dans un flacon jaugé.

Pour la titrer on en verse 10 cm³ dans un bœcher, on étend à 200 cm³ avec de l'eau bidistillée et on ajoute 30 cm³ de H_2SO_4 à 20%. On titre par KMnO_4 N/10.

$2 \text{KMnO}_4 + 5 \text{H}_2\text{O}_2 + 4 \text{H}_2\text{SO}_4 = 2 \text{KHSO}_4 + 2 \text{MnSO}_4 + 8 \text{H}_2\text{O} + 5 \text{O}_2$.

6° Equivalence des solutions de H_2O_2 et NaNO_2 .

Soit x cm³ de KMnO_4 N/10 employés lors de la titration de H_2O_2 à 1%. On porte 10 cm³ de H_2O_2 à 1% à x cm³.

1 cm³ de cette dernière dilution de H_2O_2 correspond à 1 cm³ de NaNO_2 N/10. Le mélange de ces deux derniers centimètres cubes, acidifié et mis en présence de 0,2 cm³ de solution de Rivanol, ne doit pas donner de coloration rouge violacée.

Technique opératoire

Dans un flacon jaugé de 25 cm³ on dilue au vingtième 1,25 cm³ de sérum de la façon suivante:

1,25 cm³ de solution Tampon.

20 cm³ de solution stérile de NaCl à 0,9%.

1,25 cm³ de sérum.

On mélange et on porte à 25 cm³ avec la solution de NaCl à 0,9%. Dans une série de 12 tubes de 120 · 15 mm on introduit 2 cm³ de cette dilution.

On ajoute à chaque tube, en partant du premier de gauche, respectivement et exactement, à la burette divisée en 20^e de centimètre cube

1 cm³, 1,10 cm³, 1,20 cm³, 1,30 cm³, 1,40 cm³, 1,50 cm³, 1,75 cm³, 2 cm³, 2,25 cm³, 2,50 cm³, 3 cm³, 3,50 cm³ de solution de Perhydrol à 1%.

On mélange doucement et on maintient cette série de tubes à l'étuve à 37° durant 30 min.

Après ce temps on ajoute à chaque tube 1 cm³ de H_2SO_4 N 1/3.

On mélange doucement et on ajoute partout, à la burette, exactement 1 cm³ de solution de NaNO_2 .

On mélange à nouveau et on ajoute enfin, après 10 min, 0,2 cm³ de solution de Rivanol en laissant couler cette solution le long de la paroi du tube. On ne mélange pas.

Les tubes dans lesquels il est resté assez de H_2O_2 pour transformer du nitrite en nitrate, c'est-à-dire dans lesquels tout le H_2O_2 n'a pas été décomposé par la catalase, restent jaunes. Les autres tubes montrent un anneau rouge violacé apparaissant après quelques secondes. Ces tubes accusent la teneur du sérum en catalase et cette teneur sera jugée d'autant plus importante d'après que l'apparition de la couleur violacée reculera davantage vers la droite.

On peut exprimer l'activité catalasique du sérum par la quantité mathématique de H_2O_2 décomposée par centimètre cube de sérum. Cependant, pour des raisons pratiques, il sera tout aussi démonstratif de la déterminer par le numéro d'ordre du dernier tube dans lequel la couleur rouge violacé caractéristique s'est développée.

J. LEURQUIN et J. P. DELVILLE

Laboratoire Médical de la Colonie, Elisabethville, Congo Belge, le 31 octobre 1951.

Summary

A technique is given for the detection and quantitative estimation of the catalase activity of the blood serum by measuring its capacity to decompose hydrogen peroxide.

Die Beeinflussung der Thrombin-Fibrinogen-Reaktion durch Penicillin, Streptomycin und Aureomycin

Die im folgenden beschriebenen Versuche zeigen die Beeinflussung der Gerinnung menschlichen Plasmas durch die Antibiotika Penicillin, Streptomycin und Aureomycin. Die Versuche wurden in der Absicht unternommen, den Einfluss der Antibiotika auf die Bildung eines künstlichen Fibrinfilmes aus Plasma und Thrombin festzustellen.

Bei therapeutischer Anwendung wurde bald nach Beginn der antibiotischen Ära bei Penicillin und Streptomycin eine Verkürzung der Gerinnungszeit (GZ.) beschrieben, die sowohl bei parenteralen Gaben auftrat (MOLDAVSKY, HASSELBROOK und CATENO¹) als auch bei oraler Anwendung (MACHT²). Die Meinungen über die gerinnungsaktive Wirkung des Aureomycins sind verschieden. MACHT und FARKAS³ fanden eine deutliche Verkürzung der GZ., sowohl bei Katzen als auch bei Menschen. HARNED *et al.*⁴ konnten eine Änderung der GZ. durch Aureomycin im Tierversuch nicht bestätigen, Ross *et al.*⁵ fanden auch bei Menschen keine Änderung.

Die folgenden Versuche sollen mit den klinisch gefundenen Ergebnissen nicht in eine Parallele gebracht werden, da es sich dabei um *in vivo* nie vorkommende, nur im Experiment verwendete ausserordentlich hohe antibiotische Konzentrationen handelt und ausserdem in den folgenden Untersuchungen nicht die GZ. an sich, sondern die Thrombin-Fibrinogen-Reaktion beobachtet wurde. Dies deshalb, weil die GZ. einen Summeneffekt

aus vielen Einzelfaktoren darstellt, während wir in der im folgenden beschriebenen Versuchsanordnung nur die zweite Phase der Gerinnung beobachteten.

Versuchsanordnung

Eine Tüpfelplatte wird, wie bei der Bestimmung der Prothrombinzeit, im Wasserbad auf 37° gehalten. Darauf kommen:

- 0,1 Zitratplasma,
- 0,1 physiologische Kochsalzlösung mit Zusatz steigender Mengen des Antibiotikums,
- 0,1 Thrombinlösung (1 NIH-E/cm³).

Es wird die Zeit vom Zusatz der Thrombinlösung bis zum Auftreten des ersten Fibrinfadens gemessen. Sie beträgt beim Leerwert (ohne Antibiotikum) 44 s.

Abbildung 1 zeigt die typischen Kurven, die die drei Antibiotika bei dieser Versuchsanordnung geben. In Dosen, die dem therapeutischen Blutspiegel entsprechen, ist ein Einfluss von Penicillin, Streptomycin und Aureomycin auf die GZ. nicht zu beobachten.

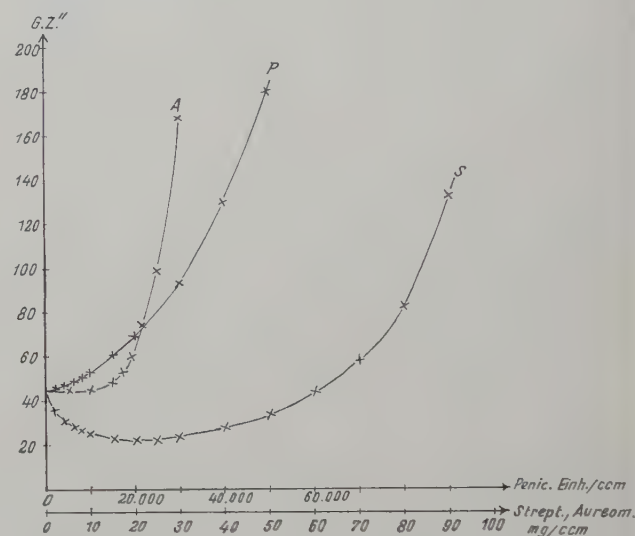


Abb. 1. Verhalten der Thrombin-Fibrinogen-Reaktion bei Zusatz von Penicillin, Streptomycin und Aureomycin in verschiedenen Konzentrationen.

(Durchschnitt aus 3 Einzelbestimmungen.)

In höherer Dosierung kommt es bei Penicillin zu einer zunehmenden Verlängerung der GZ.

Streptomycin verkürzt die Gerinnung in Dosen, die weit höher liegen als die therapeutisch erreichbaren. Bei weiterer Zunahme der Konzentration kommt es auch hier zu einer Verlängerung der GZ.

Aureomycin zeigt zunächst ziemlich lange keinen Einfluss, um dann plötzlich eine starke Verzögerung der Gerinnung hervorzurufen.

Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu der oben angeführten Verkürzung der GZ. bei therapeutischer Penicillin- und Streptomycinanwendung. Diese klinisch gefundene Verkürzung kann demnach entweder durch eine Beeinflussung eines Faktors der ersten Gerinnungsphase zustande kommen, die bei unserer Methode (Messung der zweiten Phase) nicht erfasst wurde, oder es kommt durch die Körperpassage zu einer Veränderung der Antibiotika, die *in vitro* nicht darstellbar ist.

Die Ursachen dieser Gerinnungsverlängerung könnten liegen:

1. in einer Änderung des pH,
2. in einer Denaturierung des Fibrinogens,
3. in einer Schädigung des Thrombins.

¹ L. F. MOLDAVSKY, W. B. HASSELBROOK und G. D. CATENO, Science 102, 38 (1945).

² D. J. MACHT, Science 105, 213 (1947).

³ D. J. MACHT und R. FARKAS, Science 110, 305 (1949).

⁴ B. K. HARNED, R. W. CUNNINGHAM, M. C. CLARK, R. COSGROVE, C. H. HINE, W. J. McCauley, E. STOCKEY, R. E. VESSEY, N. N. YUDA und Y. SUBBAROW, Ann. New York Acad. Sci. 51, 182 (1948).

⁵ S. ROSS, F. G. BURKE, E. C. RICE, E. B. SCHOENBACH, H. BISCHOFF und J. A. WASHINGTON, Clin. Proc. Child. Hosp. 4, 315 (1948).

Verhalten der GZ. (aus Kurve 1) und des Fibrinogens bei verschiedenen Konzentrationen der Antibiotika (Durchschnittswerte aus 3 Bestimmungen).

Antibiotische Konzentrationen/cm ³		0	10 mg (10000 E)	20 mg (20000 E)	30 mg (30000 E)	50 mg (50000 E)
Penicillin	GZ.	44	52	68	94	180
	Fibrinogen mg%	337	332	337	335	283
Streptomycin	GZ.	44	24	23	26	34
	Fibrinogen mg%	337	339	334	337	296
Aureomycin	GZ.	44	44	60	160	—
	Fibrinogen mg%	337	336	332	252	—

Ad 1: pH-Messungen bei den höchsten angewandten Konzentrationen der Antibiotika zeigten niemals Werte unter 6,6. Da aber nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von ZANDT, HAWN und PORTER¹ die Fibrinbildung im pH-Bereiche von 6,3–8,5 nicht gestört ist, kommt die pH-Änderung als Ursache nicht in Frage.

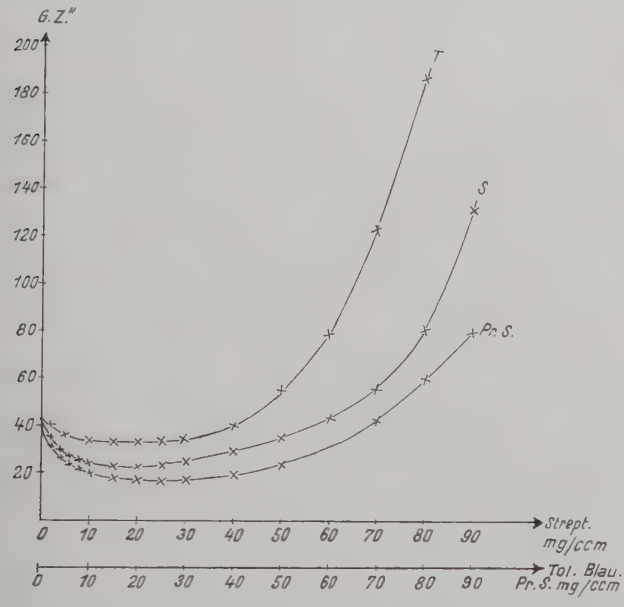


Abb. 2. Einfluss von Streptomycin (S) auf die Thrombin-Fibrinogen-Reaktion im Vergleich zu Tolidinblau (T) und Protaminsulfat (Pr.S.) (Durchschnitt aus 3 Einzelbestimmungen.)

Ad 2: Bei zunehmender Verlängerung der GZ. kam es in den Versuchen zur Bildung einer wesentlich zarteren Fibrinflocke als beim Leerversuch. Quantitative Fibrinbestimmungen mit der Methode der feuchten Veraschung nach KJELDAHL ergaben dementsprechend bei höheren Konzentrationen der Antibiotika eine mässige Abnahme des koagulierbaren Fibrinogens (Tabelle).

Da aber eine Fibrinogenabnahme nach Untersuchungen von FRICK², FRITSCHY³, WÖHLISCH⁴ und anderen bis zu Werten von etwa 30 mg % nur auf die Konsistenz des Gerinnsels Einfluss nimmt und erst darunter auf die GZ., kann sie in unseren Versuchen für deren Verlängerung nicht verantwortlich gemacht werden.

¹ C. v. ZANDT HAWN und K. R. PORTER, J. Exp. Med. 86, 285 (1947).
² P. FRICK, Helv. Med. acta 15, 6 (1948).
³ W. FRITSCHY, Diss. Zürich, 1945.
⁴ E. WÖHLISCH, Erg. Physiol. 28, 531 (1935).

Ad 3: Nach Ausschluss der beiden anderen Möglichkeiten muss deshalb angenommen werden, dass es zu einer Schädigung des Thrombins durch die hohen Konzentrationen der Antibiotika kommt.

Erklärungsbedürftig bleibt das abweichende Verhalten der Streptomycinkurve. Diese ist nun fast identisch mit der Änderung der GZ. unter Einwirkung von Tolidinblau (Abb. 2). Bei beiden Kurven kommt es (im Gegensatz zu denen der anderen geprüften Antibiotika) zuerst zu einer Verkürzung der GZ., erst später zu einer Verlängerung. Als Erklärung dafür wird vom Tolidinblau angenommen, dass es in niederen Konzentrationen die Antithrombine inaktiviert, in höheren Konzentrationen das Thrombin blockiert (FRITSCHY¹, GRUNKE²). Den gleichen Mechanismus müssen wir vom Streptomycin annehmen. Einen ähnlichen Verlauf zeigt auch die Gerinnungskurve bei Zusatz steigender Mengen von Protaminsulfat.

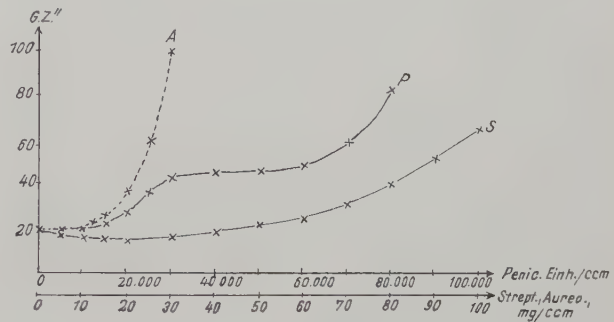


Abb. 3. Aufhebung bzw. Verzögerung der Thrombinblockierung durch Protaminsulfat. P = Penicillin, S = Streptomycin, A = Aureomycin. (Durchschnitt aus 3 Einzelbestimmungen.)

Der Einfluss von Protaminsulfat auf die durch Antibiotika verlängerte Gerinnungszeit

Bei verschiedenen Versuchen, die Thrombinblockierung aufzuheben, fanden wir im Protaminsulfat ein wirksames Mittel. Der als Antiheparin bekannte Stoff führt schon bei Zusatz zu Zitratplasma ohne Antibiotikum zu einer Verkürzung der GZ.

Wir haben zunächst, um die optimale Konzentration zu ermitteln, Protaminsulfat in verschiedenen Verdünnungen dem normalen Zitratplasma zugesetzt. Es wurde dann die GZ. mit Thrombin bestimmt, die bei 0,001 Protaminsulfat/cm³ eine Gerinnungsverkürzung von 44 s auf 20 s erreicht hatte (siehe Abb. 2). Da die Verkürzung

¹ W. FRITSCHY, Diss. Zürich, 1945.
² W. GRUNKE, Exp. Med. 107, 306 (1940).

der GZ. bei weiterer Steigerung der Protaminsulfatkonzentration nur noch geringgradig zunahm, verwendeten wir die angegebene Dosierung für alle folgenden Versuche.

Die Thrombininaktivierung der Antibiotika konnte durch Protaminsulfat beträchtlich vermindert werden (Abb. 3). So findet sich vor allem bei Penicillinkonzentrationen, die sonst das Plasma bei Zusatz der verwendeten Thrombinmenge praktisch ungerinnbar machen, eine kaum verlängerte GZ.

Aureomycin bildet hier eine Ausnahme, da es bei Zusatz von Protaminsulfat nicht zur normalen Gerinnungsbildung, sondern zur Ausfällung kleinster, nicht zusammenhängender Flocken kommt (strichlierte Kurve).

Das Protaminsulfat hat also, neben seiner Eigenschaft, Heparin zu inaktivieren, auch einen Einfluss auf die thrombinhemmende Wirkung der Antibiotika, die es innerhalb einer gewissen Konzentration aufzuheben vermag.

Diese Tatsache wirft eine Reihe von Problemen auf:

1. Es handelt sich bei der verkürzenden Wirkung des Streptomycins und des Protaminsulfats auf die GZ. um zwei verschiedene Wirkungsmechanismen. Beide zusammen haben eine stärkere Wirkung auf die Antithrombine als jedes für sich allein (siehe Abb. 2). Dementsprechend wird die Gerinnung bei Zusatz von Streptomycin plus Protaminsulfat zu Plasma stärker verkürzt als bei Zusatz der für die Gerinnungsverkürzung optimalen Protaminsulfatkonzentration.

2. Der eigenartig wellenförmige Verlauf der Penicillinkurve, der nach einem anfänglichen Anstieg keine Änderung der GZ. zwischen 30 000 und 60 000 Einheiten Penicillin/cm³ erkennen lässt, spricht ebenfalls für zwei getrennt zur Wirkung kommende Faktoren der Thrombininaktivierung.

3. Völlig ungeklärt ist die Tatsache, dass Aureomycin in höherer Dosierung eine kompakte Gerinnungsbildung verhindert.

F. MLCZOC und H. VINAZZER

II. medizinische Klinik der Universität Wien, den 15. Oktober 1951.

Summary

The influence of penicillin, streptomycin and aureomycin on the second phase of coagulation has been examined. The following results have been found:

(1) Doses which are adequate to the therapeutic blood level do not influence the thrombin-fibrinogen reaction *in vitro*.

(2) Doses which highly exceed the therapeutic blood level considerably prolong the thrombin-fibrinogen reaction by blocking thrombin.

(3) This thrombin-blocking effect of antibiotics is suppressed by protamin sulphate up to a certain concentration.

Antidiuretic Action of Small Doses of Enteramine Extracts in the Rat

II. Extracts of *Discoglossus pictus*' skin

In a previous report¹ the antidiuretic action displayed in rats by small doses of acetone extracts of posterior salivary glands of *Octopus vulgaris* was described, and the mechanism of this action discussed.

In the present researches, which complete the preceding ones, acetone extracts of *Discoglossus pictus*' skin were used. This material is very rich in enteramine; just

as rich, or nearly so, as the salivary extracts of *Octopus vulgaris*¹, over which it has the great advantage of being free of tyramine, of octopamine, and, apparently, also of other substances interfering with the antidiuretic action of enteramine.

The methods here employed correspond to those previously described: to the study of PAI (*p*-aminohippuric acid) and thiosulphate renal excretion, we have added that of creatinine excretion.

Our experimental procedure allows us to ascertain, with satisfactory accuracy, the absolute and relative values of urine flow, and also to obtain reliable information on the relative changes of glomerular filtration rate and renal plasma flow in animals treated with *Discoglossus* extract, as compared to controls.

The following doses of *Discoglossus* extract (expressed in fresh tissue) were injected subcutaneously, immediately after the second water load (5 cm³/100 g) was given by stomach tube: 0.001 g, 0.01 g, and 0.1 g per 100 g rat.

At the same time, still subcutaneously, the following test substances were administered: PAI 50 mg/kg (effective renal plasma flow), sodium thiosulphate 500 mg/kg or creatinine 200 mg/kg (glomerular filtration rate).

Diuresis was closely followed for 7 h. The concentration of test substances was estimated in samples of urine collected after 60 min, 90 min, 2 h, 3 h, and 7 h. For the smallest dose of *Discoglossus* extract only the urine flow was recorded.

The *Discoglossus* material we investigated, obtained from about 1000 animals (Sicily, March 1951), leaves a total dry residue of 17.4 mg per gram fresh tissue. Its acute toxicity in rats is very low: a subcutaneous injection of the extract corresponding to 10 g fresh tissue/100 g body weight allows all treated animals to survive.

The table shows the percent excretion of water and test substances in the with *Discoglossus* extract treated groups, when compared to the excretion in the control groups, arbitrarily considered = 100. Absolute excretion values, from which these data are calculated, will be reported in the work *in extenso*.

The conclusions we can draw from the results set down in the table are quite similar to those reported in our preceding communication²:

(1) The extract of *Discoglossus pictus*' skin constantly causes, in hydrated rats, a remarkable reduction of the urine flow. The antidiuretic action is roughly proportional to the amount of extract administered. Using our experimental methods, the smallest dose of extract still active on the diuresis corresponds to 1 mg fresh skin/100 g body weight.

In the work *in extenso* we shall demonstrate that the antidiuretic action of the *Discoglossus* extract is exclusively, or nearly so, due to its enteramine content. Probably such content is about 1/1000, when referred to fresh tissue: this means that a quantity of pure enteramine as little as 1 µg/100 g body weight is sufficient to reduce, in a significant manner, diuresis in rats.

Experiments carried out with pure enteramine (= 5-hydroxytryptamine) and with synthetic enteramine-like derivatives, have confirmed these data of sensitivity and have also confirmed that, in rats, the smallest active dose of enteramine is at least 5000–10000 times lower than the lethal dose.

(2) The reduction of urine flow is invariably accompanied by a conspicuous reduction of renal excretion of

¹ V. ERSFAMER and A. OTTOLENGHI, Exper. 8, 31 (1952).

¹ V. ERSFAMER and M. VIALI, Nature 167, 1033 (1951).

² V. ERSFAMER and A. OTTOLENGHI, Exper. 8, 31 (1952).

	Relative percent excretion (controls = 100) after					
	1	1½	2	3	4	7 hours
<i>Water</i>						
Discoglossus 0.001 g/100 g (C)	85.9	85.9	90.9	97.2	96.8	—
Discoglossus 0.01 g/100 g (A)	33.1	53.8	69.5	76.1	81.2	86.4
Discoglossus 0.01 g/100 g (B)	31.7	55.2	66.8	81.6	89.6	90.3
Discoglossus 0.1 g/100 g (A)	13.8	21.3	35.1	68.1	75.7	86.8
Discoglossus 0.1 g/100 g (B)	16.7	13.6	27.8	64.3	82.1	86.6
<i>Thiosulphate</i>						
Discoglossus 0.01 g/100 g (A)	25.3	54.1	70.1	75.5	—	78.6
Discoglossus 0.1 g/100 g (A)	7.3	22.6	33.7	48.3	—	53.2
<i>Creatinine</i>						
Discoglossus 0.01 g/100 g (B)	41.5	68.4	86.8	97.7	—	101.1
Discoglossus 0.1 g/100 g (B)	7.5	19.4	50.0	97.6	—	107.7
<i>PAI</i>						
Discoglossus 0.01 g/100 g (A)	38.2	68.8	91.6	96.3	—	102.0
Discoglossus 0.01 g/100 g (B)	51.4	75.9	92.7	100.8	—	103.1
Discoglossus 0.1 g/100 g (A)	10.4	36.9	56.5	81.6	—	92.1
Discoglossus 0.1 g/100 g (B)	14.0	15.5	45.5	80.2	—	86.5

Groups A = 48 rats, each. Groups B = 64 rats, each. Group C = 48 rats.

thiosulphate and creatinine, that is by a decrease in glomerular filtration rate.

Since at our dosage the *Discoglossus* extract is wholly ineffective on the systemic blood pressure of the rat (extract doses exceeding 0.2–0.3 g fresh tissue/100 g body weight are required to cause hypotension), only a spasm of the contractile structures of the afferent vascular bed of the glomerulus may explain the decrease of the glomerular filtration rate, as a consequence of a drop in the intraglomerular hydrostatic pressure.

Of course, also the blood flow in the intertubular capillary network will be compromised: this fact is confirmed by the reduction of the tubular excretion of PAI.

(3) After administration of the *Discoglossus* extract, the reduction of urine flow nearly always exceeds that of glomerular filtration, as inferred from creatinine excretion.

In our opinion this is not due to a stimulation of the tubular reabsorptive activity, but simply represents the consequence of a slowing in the passage of the glomerular filtrate through the tubulus; a slowing brought about by a reduction in the quantity of the filtrate.

Chemical and pharmacological researches carried out on pure enteramine, obtained by extraction and synthetically, and on natural and synthetic enteramine-like derivatives, will be published shortly.

These researches will allow us to indicate with greater accuracy, besides the pharmacological actions, also the biological significance of enteramine, substance which represents the specific secretion or deposit product of the typical enterochromaffin cells and of similar chromaffin cellular elements.

The working hypothesis that grows ever stronger as our researches go on, is the one that considers enteramine as a regulator, probably an hormonal regulator, of the flow of circulating fluids (blood, hemolymph) through the kidney, and therefore as a regulator of the function itself of the latter.

It may be that other hypotheses on the physiological significance of enteramine will be put forward in the future. It is quite evident that none of them will be acceptable when neglecting the numerous data we have already collected on the distribution of enteramine and

of the enterochromaffin cell system in Vertebrates and Invertebrates.

V. ERSAMER and A. OTTOLENGHI

Pharmacological Institute, University of Bari, October 2, 1951.

Zusammenfassung

Enteraminhaltige Hautextrakte von *Discoglossus pictus* wirken deutlich diuresehemmend noch in einer Menge, die 1 mg frischen Gewebes/100 g Ratte entspricht. Bei höheren Dosen ist die antiidiuretische Wirkung sehr ausgeprägt und viel besser wahrnehmbar als mit Speicheldrüsenextrakten von *Octopus vulgaris*.

Der Mechanismus der Enteramin-Antidiurese wird nochmals in einer Drosselung des afferenten Gefässsystems des Glomerulus identifiziert.

Enteramin (5-Hydroxytryptamin) ist als spezifischer, hormonaler Regulator der intrarenalen Vasomotorik zu betrachten.

Über die Ausscheidung und Speicherung von radioaktiv indizierten Xylanschwefelsäureestern

In einer früheren Arbeit¹ wurde gezeigt, dass sowohl die blutgerinnungshemmende Wirksamkeit als auch besonders die Toxizität der Polysaccharidschwefelsäureester von der Grösse und Gestalt der Moleküle abhängen. Es ergab sich ferner, dass Xylanschwefelsäureester vermutlich infolge der Abwesenheit von veresterten primären Alkoholgruppen bei geringer Toxizität besonders gute blutgerinnungshemmende Wirkungen besitzen. Sie haben bereits therapeutische Bedeutung erlangt.

Zur eindeutigen Klärung der Frage, ob derartige Substanzen ohne Bedenken an Stelle von Heparin therapeutisch verwendet werden können, schien es notwendig, ihr Schicksal im Organismus, das heisst das Ausmass von Ausscheidung im Harn und eventuelle spezifische Speicherung in einzelnen Organen, zu untersuchen. Da es nicht möglich ist, Xylanschwefelsäureester in ge-

¹ E. HUSEMANN, K. N. VON KAULLA und R. KAPPESSER, Z. Naturforsch. 1, 584 (1946).

ringen Mengen neben dem körpereigenen Heparin analytisch zu bestimmen, verwandten wir Präparate, die mit S³⁵ gekennzeichnet waren und einwandfrei quantitativ nachgewiesen werden konnten.

Zur Herstellung derartiger Präparate wurde S³⁵ in Chlorsulfonsäure eingeführt und diese in Anwesenheit von Pyridin mit Xylan umgesetzt. Der so erhaltene Xylanschweifelsäureester wurde Kaninchen intravenös injiziert und der Harn sowie die wichtigsten Organe auf ihre Aktivität geprüft. Infolge der sehr weichen Strahlung von S³⁵ war es notwendig, die organische Substanz zu zerstören und das Sulfat als Bariumsalz zu fällen. Die Messungen sind sehr gut reproduzierbar, wie die in Tabelle I zusammengestellten Daten an zwei Versuchstieren mit einem Präparat vom Polymerisationsgrad 12 zeigen.

Tabelle I

Organ	Spezifische Aktivität		Anteil der verabfolgten Aktivität in %	
	I	II	I	II
Leber	8,4	6,8	9,1	9,0
Niere	37,2	46,6	5,3	4,9
Dickdarm	3,5	3,4	1,3	1,8
Dünndarm	3,2	3,2	1,2	1,5
Lymphknoten . .	15,4	13,8	0,3	0,3

Nach diesen methodischen Vorversuchen prüften wir die Abhängigkeit der Ausscheidung und Speicherung vom Polymerisationsgrad der Präparate. Zu diesem Zweck stellten wir durch Abbau drei Xylanschweifelsäureester gleichen Schwefelgehaltes her, deren Kettenlängen sich wie 10:4:1 verhielten, und untersuchten ihr Verhalten im Organismus in der angegebenen Art. Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengestellt.

Aus den Daten ergibt sich eindeutig, dass sowohl die Speicherung in den Organen – in besonderem Ausmass in Leber und Milz – als auch die Ausscheidung im Harn erheblich von der Kettenlänge der Xylanschweifelsäureester abhängen. Heparin, das nach seiner Viskositätszahl zwischen Präparat 1 und 2 einzuordnen ist, wird nach MARBET und WINTERSTEIN¹ zu etwa 40% ausgeschieden; es nimmt also keine Sonderstellung ein, son-

¹ Helv. physiol. acta 9, 24 (1951).

dern verhält sich in dieser Beziehung ähnlich wie die Xylanschweifelsäureester.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie der Dr.-A.-Wander-AG., Bern, möchten wir auch an dieser Stelle für die Unterstützung dieser Arbeit unseren Dank aussprechen.

E. HUSEMANN, E. G. HOFFMANN, R. LÖTTERLE und M. WIEDERSHEIM.

Forschungsinstitut für makromolekulare Chemie, Physikalisches und Pharmakologisches Institut der Universität Freiburg i.Br., den 29. Oktober 1951.

Summary

The excretion and storage of xylane sulphuric acid esters which inhibit blood clotting, was investigated in rabbits by using radioactively labelled preparations (S³⁵). A specific storage was shown in different organs (liver, kidney, spleen), the extent of which increased considerably with the grade of polymerisation of the preparations while the excretion was correspondingly less.

The Occurrence of an Abnormal Black Pigment in the Incisors of Albino Rats Reared on certain Purified Diets¹

It is known that in albino rats certain vitamin deficiencies, i.e., lack of vitamin A or E, induce incisor depigmentation (whitening), that is, a loss of the normal yellow-brown pigment of the enamel². In these deficiencies also definite histopathological and chemical changes of the incisors have been found³. We are herewith reporting the occurrence of an abnormal black pigment in the incisors, which has been previously ob-

¹ Aided by a grant from the "Roche"-Studien-Stiftung.
² M. C. SMITH and E. M. LANTZ, J. Home Econ. 25, 411 (1933). – T. MOORE, Biochem. J. 37, 112 (1943). – H. GRANADOS and H. DAM, Science 101, 250 (1945); Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 52, 295 (1945). – H. DAM and H. GRANADOS, Science 102, 327 (1945).
³ S. B. WOLBACH and P. R. HOWE, Am. J. Pathol. 9, 275 (1933). – H. MELLANBY, Brit. Dent. J. 67, 187 (1939). – I. SCHOUR, M. M. HOFFMAN, and M. C. SMITH, Am. J. Pathol. 17, 529 (1941). – J. T. IRVING, Nature 150, 122 (1942). – H. GRANADOS, K. E. MASON, and H. DAM, J. Dent. Res. 24, 197 (1945); 25, 179 (1946). – H. DAM, H. GRANADOS, and L. MALTESEN, Acta physiol. Scand. 21, 124 (1950).

Tabelle II

Nr.	Z η	Polymerisations-grad*	Organ	Spezifische Aktivität	Anteil der verabfolgten Aktivität in %
1	0,028	45	Leber	85	21
			Niere	98	6
			Milz	140	0,5
			Lunge	12	0,5
			Darm	10	2,4
			Harn	—	26,0
2	0,0075	12	Leber	7	9
			Niere	40	5
			Milz	10	0,14
			Lymphknoten	15	0,3
			Harn	—	27
3	0,0023	4	Leber	1	0,6
			Niere	10	1
			Harn	—	66

* Die Polymerisationsgrade wurden aus den Viskositätszahlen mit einem K_m-Wert von 6,2 · 10⁻⁴ berechnet.

Incidence of pigment changes in the upper incisors of the rats from the two experiments, from the third to the ninth experimental weeks

Groups	First experiment					Second experiment				
	1	1A	2	2A	3	4	4A	5	5A	6
Total number of animals	26	26	26	24	20	28	26	28	27	20
Percentage with depigmentation and black pigment	35	15	58	33	0	0	0	0	0	0
Percentage with black pigment without depigmentation	57	81	42	63	0	54	58	82	52	0
Percentage with normal pigment	8	4	0	4	100	46	42	18	48	100

served by PAUL and PAUL¹ and attributed by them to vitamin A deficiency.

In connection with some experiments that we are carrying out to study certain effects of pantothenic acid, the occurrence of an abnormal black pigment in the enamel of the incisors has been noticed. It has been seen in rats of both sexes, intact as well as adrenalectomized animals, reared on the purified diets referred to below.

This report comprises two experiments (5 groups in each) carried out with young rats weighing between 70 and 80 g. In both experiments the first four groups were given a basal diet containing salt mixture² 5 g, casein³ 20 g, sucrose 64 g, and coconut fat⁴ 9 g. Each 100 g of diet were supplemented with 1.9 cm cod liver oil which supplied vitamins A and D. These eight groups received 1% solution of NaCl in distilled water as drinking fluid.

First experiment: Each 100 g of the basal diet given to groups 1 (intact rats) and 1A (adrenalectomized rats) were supplemented with 0.3 mg thiamine hydrochloride, 0.3 mg pyridoxin, and 0.9 mg riboflavin. Groups 2 (intact) and 2A (adrenalectomized) were fed the same diet as groups 1 and 1A supplemented with 43.6 mg calcium pantothenate per 100 g. Group 3 (normal controls) was given a stock colony diet⁵ of the following composition: polished rice 48.55 g, corn meal 17.10 g, wheat meal 11.40 g, rye meal 5.70 g, dry meat powder 10.10 g, salt mixture⁶ 1.80 g, coconut fat 3.30 g, cod liver oil 1.50 g, dry brewer's yeast 0.60 g, and Vi-De-Sec⁷ 0.05 g. Besides, the animals received as a supplement, this one day whole yellow corn and the next day fresh carrots. Furthermore, they received tap water to drink.

Second experiment: Each 100 g of the basal diet given to groups 4 (intact) and 4A (adrenalectomized) were supplemented with 1 mg thiamine hydrochloride, 1 mg

pyridoxin, 2 mg riboflavin, 10 mg nicotinamide, 30 mg *p*-aminobenzoic acid, 5 mg inositol, 0.05 mg biotin, 0.20 mg folic acid, 100 mg choline chloride, and 5 mg *d,l*- α -tocopherol acetate¹. Groups 5 (intact) and 5A (adrenalectomized) received the same diet as groups 4 and 4A supplemented with 43.6 mg calcium pantothenate per 100 g². Group 6 (normal controls) was given the same stock ration as group 3. Groups 1A, 2A, 4A, and 5A were adrenalectomized in the fourth experimental week.

In all the eight groups fed with purified rations, the black pigment began to appear from the 2nd to the 3rd experimental weeks, and was found almost exclusively in the upper incisors (with two exceptions, one rat in group 1 and one in group 2A, in which animals also a slight black pigmentation of the lower incisors was found). In the groups given the vitamin E-free rations (groups 1 to 2A) 15% to 58% of the animals exhibited incisor depigmentation combined with the appearance of the black pigment. The depigmentation was to be expected since these groups received vitamin E-free diets which contained dietary fat, and is in agreement with previous observations³. The Table presents the incidence of pigment changes in the upper incisors. In the first experiment 42% to 81% of the rats had black pigment without depigmentation. Contrary to this, none of the animals fed with stock diet (group 3) exhibited any abnormal color change in their incisors. In the second experiment most animals exhibited no incisor depigmentation; however, 52% to 82% of the rats (intact and adrenalectomized) fed with purified rations (groups 4 to 5A) had black pigment, whereas none of the animals that received the stock diet (group 6) exhibited any abnormal change of color in their incisors.

The Table shows further that the total incidence of black pigment (taken together when it occurred alone and when combined with depigmentation) in the rats from the first experiment (groups 1 to 2A) was appreciably higher than in the second experiment (groups 4 to 5A). Furthermore, in the course of the studies it was observed that in the animals of the first experiment the black pigment was deposited to a larger extent than in the rats of the second experiment.

The Figure shows examples of the heads of rats from various groups. The following explanation refers to the color changes in the upper incisors. A: normal yellow-brown pigment of the incisors in a rat from group 3. B: black pigment in the gingival 1/4 and full depigmentation in the rest of the enamel in a rat from group 1.

¹ H. E. PAUL and M. F. PAUL, *J. Nutrition* 31, 67 (1946).
² The percentage composition of the salt mixture was 2.31 g ferric citrate, 44.17 g calcium diphosphate, 41.85 g potassium citrate, 11.62 g magnesium citrate, 0.046 g copper sulphate, and 0.0058 g potassium iodide.
³ The casein used was "Vitaminfreies Casein" from Dr. A. Wander AG., Bern.
⁴ "Weisses Cocosnussfett SAIS" from Astra Fett- und Ölwerke AG., Steffisburg.
⁵ The diet is prepared daily as follows: First the rice is cooked for a short time in a mixture of water and fresh milk (in the proportion of 4 l of water and 750 ml of milk to 1 kg of rice), and after cooling the other ingredients are added and mixed. The final food has a consistency of gruel.
⁶ Percentage composition of the salt mixture incorporated in the stock diet: 32.31 g iodinated sodium chloride, 5.14 g magnesium sulphate, 6.50 g monobasic sodium phosphate, 18.30 g dibasic potassium phosphate, 10.40 g tribasic calcium phosphate, 25.00 g calcium lactate, 2.22 g ferric citrate, and 0.13 g manganese sulphate.
⁷ Vi-De-Sec is a commercial source of vitamin D from Dr. A. Wander AG., Bern.

¹ The tocopherol acetate was mixed in the cod liver oil.
² All the pure vitamins were kindly supplied by F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, for which we express our thanks.
³ H. GRANADOS and H. DAM, *Science* 101, 250 (1945); *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 59, 295 (1945). - H. DAM and H. GRANADOS, *Science* 102, 327 (1945).



C: black pigment in the gingival 2/3 and partial depigmentation in the incisal 1/3 in a rat from group 2. D: black pigment in the gingival 1/2 and normal yellow-brown pigment in the rest of the enamel in a rat from group 2A. E: black pigment in the gingival 2/3 and normal yellow-brown pigment in the incisal 1/3 in a rat from group 4. F: black pigment in the gingival 1/2 and normal yellow-brown pigment in the rest of the enamel in a rat from group 5.

In both experiments each of the animals fed the purified diets received daily, through the cod liver oil, about 152 units of vitamin A, which should cover amply the requirement of the rat for this vitamin. Therefore it appears doubtful that, as stated by PAUL and PAUL, the black pigment is due to vitamin A deficiency. Experiments are being carried out in order to study this problem.

The following preliminary observations on the characteristics of the black pigment have been made: it disappears rapidly by incineration in the gas flame, slowly in contact with hydrogen peroxide, and very slowly when the teeth are kept in 5% neutral formalin. On the other hand, the black pigment remains the same when the teeth are kept for a long time in 70% ethanol, ether, chloroform, acetone or xylol. Keeping the teeth in boiling water for one hour neither affects the black pigmentation.

H. GRANADOS

Physiological Institute, University of Basel, January 25, 1952.

Zusammenfassung

Junge Albinoratten beiderlei Geschlechtes, normale und adrenaletomierte Tiere, wurden auf synthetischen Diäten gehalten, in welchen entweder eine Anzahl von Vitaminen fehlte oder welche die Vitamine A, D, E sowie alle chemisch identifizierten B-Vitamine in genügenden Mengen enthielten.

Bei diesen Tieren entstand ein abnormes schwarzes Pigment an den Inzisoren, besonders oben. Kontrolltiere aus der Zuchtdiät zeigten dieses Pigment niemals. Die Häufigkeit in den einzelnen Gruppen ist in der Tabelle wiedergegeben. Die Abbildung zeigt Beispiele.

Are Ba-Ions a Pure Muscular Stimulant on the Rat's Ileum but not on the Guinea Pig's? The Species Difference in Spasmolytic Potency of Some Ganglionic Blocking Agents

FELDBERG¹ recently reported that barium-induced contractions of the guinea pig's and rabbit's ileum were mainly of ganglionic origin, since the induced muscular contractions were partly inhibited by hexamethonium. The concentrations of C_6 which reduced the responses to barium ions had little or no influence on the contractions caused by histamine or acetylcholine. He furthermore suggested that the use of barium salts as a smooth muscle stimulant when testing spasmolytic compounds needed a reinvestigation. FELDBERG's findings that C_6 reduces Ba-induced contractions of guinea pig's and rabbit's ileum, as well as the negligible effect of C_6 on the action of acetylcholine and histamine, have been verified by us. The results are the same if the bath fluid has the composition given by FELDBERG or the composition given below with a $MgCl_2$ content between 5 mg/l and 100 mg/l.

In our experiments we have used ileal preparations from animals killed just before the experiment. The bath fluid was kept at a temperature of 35°C and contained per litre: NaCl 9.2 g, KCl 0.42 g, $CaCl_2$ 0.24 g, NaH_2PO_4 0.1 g, $NaHCO_3$ 0.1 g, $MgCl_2$ 0.005–0.1 g, dextrose 1 g. The pH of this fluid at 35°C is 7.4 when oxygen has been bubbling through the bath for some minutes.

In experiments on rat ileum, however, it was found that hexamethonium had no influence on the contractions caused by $BaCl_2$ (30–80 $\mu g/ml$ in the bath) or acetylcholine HCl (0.005–0.05 $\mu g/ml$ in the bath). The concentration of hexamethonium bromide used was 40 $\mu g/ml$ bath fluid. C_6 was allowed to remain in the bath 2–20 min before the gut was stimulated with Ba or acetylcholine. When hexamethonium in the same concentration was kept in the bath for 2 min, it always completely abolished the contraction otherwise caused by 10 μg nicotine-bitartrate/ml bath fluid.

On the rat ileum this concentration of nicotine caused a contraction of about the same magnitude as the Ba concentrations mentioned above.

Variations of the $MgCl_2$ concentration of the bath fluid from 5–100 mg/l had no influence on the effects of C_6 on rat ileum.

Thus it may be expected that spasmolytics which have slight or no inhibitory effect on the transmission in auto-

¹ W. FELDBERG, J. Physiol. 113, 483 (1951).

nomic ganglia ought to have about the same potency against Ba-induced spasm on the rat's and guinea pig's ileum. Spasmolytic compounds with ganglionic blocking properties, on the other hand, ought to have a higher inhibitory potency on guinea pig's ileum when BaCl₂ is used as stimulant.

In order to test this hypothesis the following compounds were assayed against ileal spasm due to BaCl₂: Papaverine-HCl, (I); trasentin-6H, (II); 10-(α -diethylaminopropionyl)-phenothiazine, (III); Banthine, (IV), and another quarternary ammonium compound, 10-(triethyl-ammoniumacetyl)-phenothiazinebromide, (V). III has the ability to inhibit nicotine-induced convulsions in animals^{1,2}.

In all tests the inhibitor preceded the stimulant, BaCl₂, by 2 min. The concentrations of BaCl₂ used in the trials were the same as mentioned above.

The averaged results are given in the Table.

Compound	ED ₅₀ μ g/ml bath fluid. Ba-stimulated guinea pig's ileum. 100 mg MgCl ₂ per litre bath fluid	ED ₅₀ μ g/ml bath fluid. Ba-stimulated rat's ileum. 100 mg MgCl ₂ per litre bath fluid
I	2	1.2
II	0.6	0.4
III	2	2
IV	0.4	50
V	0.1	30

Using guinea pig's ileum it has been found that an addition of 5 mg/l of C₆ to the Tyrode solution used by us results in ED₅₀ values for (IV) and (V) which are the same as those given for rat's ileum. This concentration of C₆ has a weak influence on the contraction of guinea pig's ileum caused by 10 μ g/ml nicotine but practically abolishes the response to 1 μ g/ml.

It may thus be concluded that Ba-ions are a pure muscular stimulant on the rat's ileum, as far as the specificity of C₆ can be trusted.

A more detailed report including studies on the effect of Mg-ions on the potency of spasmolytics will be published later.

T. EDLUND and A. LOHI

Institute of Pharmacology, Uppsala, and Central Laboratories, AB Astra, Södertälje, Sweden, December 30, 1951.

Zusammenfassung

FELDBERGS Befund, dass Bariumionen nicht nur die Längsmuskulatur des Dünndarms, sondern auch die Ganglien stimulieren, konnte am Ileum des Meerschweinchens bestätigt werden. Dagegen haben Bariumionen wahrscheinlich eine rein myogene Wirkung auf das Ileum der Ratte.

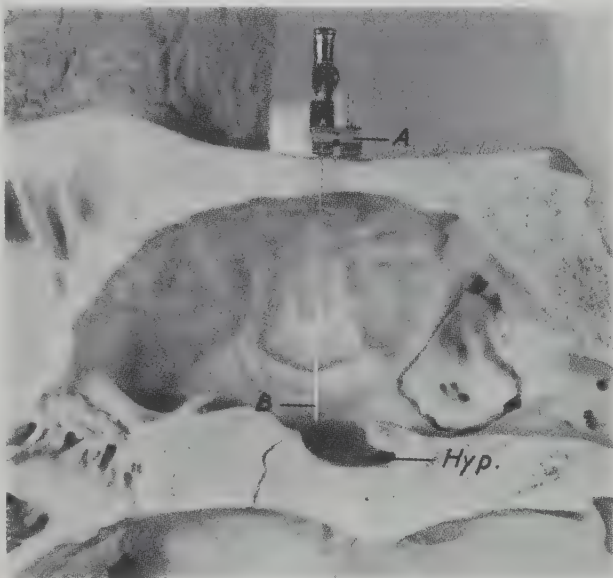
¹ R. DAHLBOM and T. EKSTRAND, Acta chem. Scand. 5, 102 (1951).

² R. DAHLBOM *et al.*, Arch. int. Pharmacodyn. (1952) (in press).

Polydipsia Caused by Intrahypothalamic Injections of Hypertonic NaCl-Solutions

According to a common theory ordinary thirst is closely correlated with cellular dehydration. Thus the sensation of thirst should be of "general origin". But the generation of primary polydipsia by injuries in the hypothalamus suggests that the sensation of thirst could be induced from this part of the brain stem. WOLF¹ in a paper on osmometric analysis of thirst in man and dog also states that the consequences of such a cellular dehydration hypothesis would remain substantially intact if it were postulated that osmoreceptors of the VERNEY² type, rather than general body tissues, were the receptors in a thirst reflex.

In order to study the effect of an increased osmotic pressure in the hypothalamus, injections of hypertonic NaCl-solutions were performed directly into this part of the brain stem of unanaesthetized goats. Further work on this subject is going on.



Paramedian sagittal section through the cranium of a goat with the cannula fixed on the skull. A = Socle fixed on the skull. B = Point of injection. Hyp. = Position of the pituitary gland.

Methods: For the injections 0.5 mm thick cannulae were used. HESS³ technique was applied for fixation and guidance of the cannulae, the length of which varied after the size of the heads and the points of stimulation desired. X-ray pictures of the skull were taken before and after each experiment in order to secure and control the position of the cannulae. The injections were performed through small holes in the cannulae 3–6 mm from their tips and orally directed. The Figure shows a paramedian sagittal section through a cranium of a goat with a cannula placed in the manner used when injecting into the anterior hypothalamus. Body warm 1.5–2% NaCl-solutions were used, and the amount injected was 0.1 cm³. After having finished an experiment a small amount of Indian ink or Evans blue was injected through the

¹ A. V. WOLF, Amer. J. Physiol. 161, 75 (1950).

² E. B. VERNEY, Proc. Roy. Soc. [B] 135, 25 (1947).

³ W. R. HESS, Beiträge zur Physiologie des Hirnstammes, I. (Georg Thieme, Leipzig 1932); Das Zwischenhirn (Benno Schwabe & Co., Basel 1949).

cannula in order to facilitate the localization. The histological examination of the brains has just started.

Results: Intrahypothalamic injections have as yet been undertaken in 16 animals. In 8 experiments polydipsia of varying intensity was seen as effect of the injections. These animals all refused to drink water before the injection was made, but after the injection of hypertonic NaCl-solution they drank after a latent period of $\frac{1}{2}$ to $1\frac{1}{2}$ minutes between 500 and 2500 cm³ tepid water. The effect was filmed in some of the experiments. In 6 of these experiments the effect could be repeated 3 or 4 times with half an hour between the injections, but two animals became docile after the first injection—one of them falling into seemingly normal sleep—and in these two animals the effect was not repeatable. In the two animals where the best effect was obtained, the injections were followed by obvious water diuresis, which started about one hour after the first injection corresponding to the extensive water intake. The course of water diuresis of one of these animals, which had drunk 5.5 l as a consequence of the injections, was followed for 3 h after the last injection. During this time it excreted 4 l of urine with a specific gravity of 1.001 during the height of the water diuresis. The specific gravity of the urine before the experiment started was 1.034. Next day in the morning the specific gravity of the animal's urine was 1.038.

In all the 8 experiments, where positive results were obtained, the point of injection was situated medially in the anterior hypothalamus, as far as can be seen from the X-ray pictures and from the brains examined up to now. Injections in front of the optic chiasm, and in the posterior and lateral parts of the hypothalamus were not effective. As far as can be judged from the experiments undertaken up to now, injections of isotonic or hypotonic salt solutions have none or very little effect, but further experiments are required for eliminating the possibility of possible mechanical effect.

These experiments might support the view that cells reacting specifically to an increased osmotic pressure of the fluid bathing them are situated in the anterior hypothalamus. Thus cells of this kind would, besides controlling the liberation of the antidiuretic hormone from the posterior pituitary, be responsible also for the elicitation of thirst.

B. ANDERSSON

Department of Physiology, Kungl. Veterinärhögskolan, Stockholm, February 4, 1952.

Zusammenfassung

Injektionen von 0,1 cm³ 1,5- bis 2%iger NaCl-Lösung führen bei Applikation in die mediale Region des vorderen Hypothalamus bei nichtnarkotisierten Ziegen nach einer Latenzzeit von $\frac{1}{2}$ bis $1\frac{1}{2}$ min zu einer ausgeprägten Polydipsie. In 6 von 8 Fällen war der Effekt wiederholbar. Zur Fixierung und Leitung der Kanüle wurde die Hesssche Technik angewandt.

Methode zur Beurteilung der Koronardurchblutung

Bei der Durchsicht von Radiozirkulogrammen, die von Normalpersonen und Kreislaufkranken durch Injektion von radioaktivem Kochsalz in die rechte Armvene und Registrierung der Radioaktivität über dem

Herzen gewonnen wurden¹, ist uns folgendes aufgefallen. Nachdem das radioaktive Blut die rechte und die linke Herzhälfte durchflossen hat (R und L der Herzkurve, Abbildung), sinkt bei mehr als der Hälfte der Fälle die Aktivität nicht sogleich auf einen konstanten Endwert ab. In dieser Nachperiode folgen zuerst zwei kleine Maxima, welche deutlich ausserhalb der statistischen Aktivitätsschwankungen liegen. Sie werden durch kleine Mengen radioaktiven Blutes verursacht, welche zu diesen Zeitpunkten direkt unter dem Herzzählrohr lokalisiert sind. Eine Erklärung dafür gibt der Koronarkreislauf.

Ein Teil des Aortenblutes (aus L) wird im Bereich des Zählrohres in die Koronargefässe abgezweigt und im Herzmuskel verteilt. Nach einigen Sekunden sammelt es sich wieder im Sinus coronarius hinter dem Herzen, das heisst an einer vom Zählrohr entfernten Stelle, oder fliesst durch die vorderen Herzvenen direkt in den rechten Vorhof². Durch den Einstrom in die dicht unter dem Zählrohr gelegene Kammer folgt darauf der erste Koronargipfel (C_R). Von hier aus fliesst das radioaktive Blut zum zweitenmal durch den Lungenkreislauf und gelangt nach Ablauf der mittleren Lungenzeit ($R-L$) in die linke Kammer (zweiter Koronargipfel C_L).

Aus beiden Gipfeln muss sich daher die gleiche Koronarzeit für den Durchfluss des Blutes von der linken Kammer durch den Anfangsteil der Aorta, die Koronargefässe bis in den Sinus coronarius und den rechten Vorhof bestimmen lassen. Die Zeit $L - C_R$ entspricht der Summe aus Koronarzeit und Einflusszeit des Blutes vom Sinus coronarius in die rechte Kammer. An Stelle der letzteren wird zur Berechnung mit kleinem Fehler die Zeit $HB-R$ (Einstromzeit herznahe Vena cava cranialis – rechte Kammer) eingesetzt. Zur Berechnung der Koronarzeit $L - C_L$ muss neben derselben Einflusszeit noch die mittlere Lungenzeit subtrahiert werden. Auch dieser Subtrahend ist aus dem vorangehenden Kurvenverlauf bestimmbar.

Die Auswertung von 77 Normalkurven, aufgenommen bei Ruhe und liegend, Herzfrequenz 60–90, ergab im Mittel eine Koronarzeit von

$$4,1 \pm 0,21 \text{ s aus } L - C_R \text{ und}$$

$$4,3 \pm 0,21 \text{ s aus } L - C_L.$$

Die innerhalb des statistischen Fehlers liegende Übereinstimmung dieser Resultate macht es in hohem Masse wahrscheinlich, dass es sich bei den mit C_R und C_L bezeichneten Gipfeln um die gleiche radioaktive Blutmenge vor und nach Durchströmung des Lungenkreislaufes handelt. Bei dieser kleinen Kreislaufzeit von 4,2 s kann es sich nur um Koronarblut handeln. Alle übrigen bisher bestimmten Kreislaufzeiten sind wesentlich länger. Nur die Lungenzeit, vom rechten bis ins linke Herz, ist etwa gleich (4–4,5 s³).

Erst nach einer kurzen konstanten Periode wird der Verlauf der Herzaktivitätskurve wieder wellenförmig durch das im Herzen eintreffende rezirkulierende Blut aus den Organen und Extremitäten. Die Aktivitäten dieser verschiedenen Blutströme können sich auch im Herzen treffen, so dass ein markanter Gipfel entsprechend der mittleren peripheren Umlaufzeit nach 40–50 s erkennbar wird (R_2 in der Abbildung).

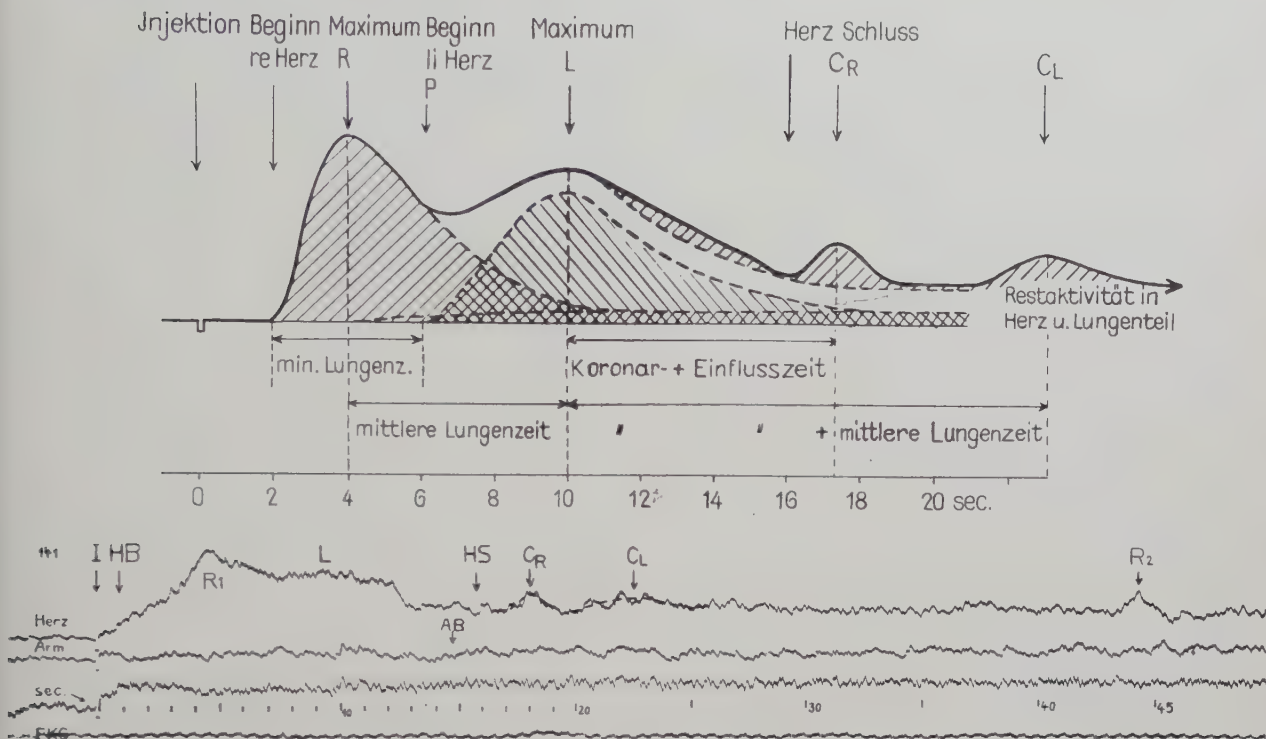
Bei Koronarinsuffizienten haben wir nach Einnahme von Nitroglycerin per os oder Corphyllamin intravenös

¹ P. Waser und W. Hunzinger, *Cardiologia* 15, 219 (1949); *Exper.* 6, 109 (1950); *Schweiz. Med. Wschr.* 81, 216 (1951).

² D. E. Gregg, R. E. Shipley und T. G. Bidder, *Am. J. Physiol.* 139, 732 (1943).

³ P. Waser und W. Hunzinger, *Cardiologia* 15, 219 (1949); *Exper.* 6, 109 (1950); *Schweiz. med. Wschr.* 81, 216 (1951).

Blutverteilung und Herzkurve



Beispiel eines Normalzirkulogramms. Abszisse: Zeit; Ordinate: Strahlungsintensität.

HB: Beginn der rechten Herzphase. – R_1 : Gipfel des rechten Herzens (R_2 : beim zweiten Umlauf). – P: Beginn der linken Herzphase. – L: Gipfel des linken Herzens. – HS: Schluss der linken Herzphase. – C_R : Koronarblut im rechten Herzen. – C_L : Koronarblut im linken Herzen. – AB: Arm, Beginn der Aktivität. – EKG: Elektrokardiogramm.

entsprechend der verbesserten Koronardurchblutung das Auftreten der vorher kaum angedeuteten Gipfel C_R und C_L beobachtet. Ebenso werden die beiden Koronargipfel bei gesteigerter Herzleistung ausgeprägter.

Entsprechend den Bestimmungen des Herzminutenvolumens mit Farbstoffinjektionen¹ ergibt die halbe Fläche der Herzkurve ein relatives Mass für das Minutenvolumen. Analog dazu erhält man aus der Fläche der Koronargipfel den Anteil der Koronardurchblutung an der gesamten Herzförderung. Er beträgt bei den beobachteten Fällen im Mittel 8–9%. Nur bei kleinem Koronarfluss (< 5%) verschwinden die Koronargipfel in den statistischen Unregelmässigkeiten der Kurve. Es ist

daher auf diesem ungefährlichen Wege oft möglich, das Koronarstromvolumen direkt zu bestimmen.

P. WASER und W. HUNZINGER

Medizinische Universitätsklinik Basel, den 25. Januar 1952.

Summary

The possibility to estimate the coronary blood flow in men by radiocirculography is discussed. After intravenous injection of $Na^{24}Cl$ the continuously recorded radioactivity over the heart shows the passage of the radioactive blood through the heart chambers and within 4.2 s (pulse rate 60–90) through the coronary system. The area of the "coronary peaks" (C_R and C_L) may give an estimation of the rate of coronary blood flow relative to cardiac output.

¹ W. F. HAMILTON, R. L. RILEY, A. M. ATTYAH, A. COURNAND, D. M. FOWELL, A. HIMMELSTEIN, R. P. NOBLE, J. W. REMINGTON, D. W. RICHARDS JR., N. C. WHEELER und A. C. WITHAM, Am. J. Physiol. 153, 309 (1948).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Handbuch der Laplace-Transformation

Band I: *Theorie der Laplace-Transformation.*

Von GUSTAV DOETSCH

581 Seiten mit 40 Abbildungen
(Verlag Birkhäuser AG., Basel 1950)
(brosch. Fr. 79.05, geb. Fr. 83.20)

Der Verfasser hat durch sein 1937 erschienenes, inzwischen klassisch gewordenes Buch «Theorie und Anwendung der Laplace-Transformation» dieses Gebiet der Analysis der mathematischen Allgemeinheit erst wirklich zugänglich gemacht. Das vorliegende Werk ist der erste Teil einer Neubearbeitung, die den inzwischen erzielten Fortschritten in Theorie und Anwendung Rechnung trägt. Das Werk hat alle Vorzüge des früheren Buches. Es gibt eine sehr klare, sorgfältige und gut lesbare Darstellung der Theorie der Laplace-Transformation mit ihren vielfältigen Beziehungen zu den verschiedensten Teilen der klassischen Analysis, der Funktionentheorie, der Fourieranalyse, den Dirichletschen Reihen, den fastperiodischen Funktionen, den Limitierungsverfahren. Eine wesentliche Abrundung und Vertiefung gegenüber der ersten Darstellung wird durch Benützung des Lebesgueschen Integralbegriffes erzielt, doch verzichtet der Verfasser auf eine Darstellung des auf dem Lebesgue-Stieltjesschen Integral beruhenden Teiles der Theorie. Das Buch enthält eine grosse Anzahl zum ersten mal publizierter Resultate, so zum Beispiel im 6. Kapitel die Parsevalsche Formel für die Laplace-Transformation, im 9. Kapitel eine Theorie der verallgemeinerten Laplace-Transformation k -ter Ordnung, die eine analytische Fortsetzung der Laplacetransformierten durch k -fache arithmetische Mittel ergibt, im 15. Kapitel Abelsche Sätze für das komplexe Umkehrintegral. Ein Anhang enthält eine Zusammenstellung im Text verwendeter, nicht allgemein geläufiger Sätze der Analysis; zahlreiche Anmerkungen, Quellenhinweise und ein ausführliches Literaturverzeichnis erhöhen den Wert des Werkes, das in seiner Reichhaltigkeit und Vielseitigkeit ein unentbehrliches Hilfsmittel für jeden Analytiker ist. Der zweite Teil soll die Anwendungen der Theorie bringen.

G. KÖTHE

Die zweidimensionale Laplace-Transformation

Von DIETRICH VOELKER und GUSTAV DOETSCH

260 Seiten mit 17 Abbildungen und vielen Tabellen
(Verlag Birkhäuser AG., Basel 1950)
(brosch. Fr. 43.70, geb. Fr. 47.85)

Dies ist die erste systematische Darstellung der zweidimensionalen Laplace-Transformation, die einer Funktion $F(x, y)$ die Bildfunktion

$$\mathfrak{L}^2(F) = f(u, v) = \int_0^\infty \int_0^\infty e^{-ux-vy} F(x, y) dx dy$$

zuordnet. Diese Abbildung kann in den meisten Fällen durch Hinterausführung zweier gewöhnlicher Laplace-Transformationen erhalten werden. Nach einer kurzen Darstellung einiger grundlegender Eigenschaften wird die Brauchbarkeit der L^2 -Transformation

an Beispielen ausführlich auseinandergesetzt. Sie ist zugeschnitten auf Randwertprobleme partieller Differentialgleichungen in zwei Variablen mit konstanten Koeffizienten, in denen die gesuchte Funktion im Quadranten $x \geq 0, y \geq 0$ so zu bestimmen ist, daß sie auf den positiven Halbachsen vorgegebene Randbedingungen erfüllt. Es werden behandelt die Wärmeleitungsgleichung, die Wellengleichung, die Telegraphengleichung, die Poissonsche Gleichung, die allgemeine partielle Differentialgleichung zweiter Ordnung mit konstanten Koeffizienten und Systeme von partiellen Differentialgleichungen mit zwei Variablen. Am Beispiel der Wärmeleitung in einer Platte wird die Anwendbarkeit der L^2 -Transformation auf Probleme mit drei Variablen dargestellt. Zwei umfangreiche Tafeln einander zugeordneter Funktionen f und F und einander entsprechender Operationen an den f beziehungsweise F bilden den zweiten Teil des Buches. Es ist mit grosser Sorgfalt geschrieben und will in erster Linie eine Methode zur praktischen Lösung gewisser Randwertprobleme lehren. Deshalb treten bei aller mathematischen Strenge die theoretischen Überlegungen hinter den Anwendungen zurück. Das Buch kommt so dem Verständnis und den Bedürfnissen der Physiker und Techniker besonders entgegen.

G. KÖTHE

Erweckung der Steine

Essays zur Angewandten Geologie in Österreich

Von HEINRICH KÜPPER

57 Seiten, 4 Photos und 1 Diagramm
(Druck und Verlag der Österreichischen Staatsdruckerei, Wien 1951) (sFr. 6.-)

Unter dem poetischen Haupttitel verbirgt sich eine in verschiedener Hinsicht recht aufschlußreiche, vom initiativen Leiter der Geologischen Bundesanstalt in Wien verfaßte Umschau über die in Österreich geleistete geologische Forschungsarbeit. Die kleine Broschüre bildet einen Teil der wertvollen Publikationen, die zu der im Juni 1951 abgehaltenen Wiederaufbau- und Hundertjahrfeier der österreichischen Geologischen Bundesanstalt veröffentlicht wurden. Im Gegensatz zu den wissenschaftlichen Einzelarbeiten wendet sich der Verfasser in dieser Broschüre nicht nur an den Geologen, sondern auch an die mit der Geologie verbundenen Kreise der übrigen Naturwissenschaften, der Technik und der Wirtschaft.

In zwanglos verbundenen, skizzenhaften Abschnitten wird vorerst aufgezeigt, auf welchen Wegen sich geologisches Denken in Österreich zur heutigen Situation entwickelt hat und wie es verstanden sein will. Der Abschnitt «Der Geologe im sozialen Gefüge» enthält unter anderem den Hinweis, daß in den Jahren 1900 bis 1948 die Zahl der innerhalb der heutigen Grenzen Österreichs arbeitenden Geologen von etwa 50 auf rund 200 angestiegen ist, während im gleichen Zeitraum die Zahl der in den USA. arbeitenden Geologen von zirka 750 (1900) auf rund 12000 (1948) angewachsen ist. Der für die Geologie interessierte Nichtgeologe findet grundsätzliche Bemerkungen und Beispiele zur Frage der angewandten Geologie in den Abschnitten «Wissenschaft und Handwerk», «Von der Wünschelrute zu Meßmethoden und Bohrarbeit» und «Kritisches zu grundlegenden Begriffen

im Fragenkreis der Erdölentstehung»; die Beispiele sind zwar – entsprechend der früheren Tätigkeit des Verfassers in Übersee – fast ausnahmslos der Erdölgeologie entnommen, vermitteln aber zusammen mit dem Schlußkapitel «Arbeit der Gegenwart, Probleme der Zukunft» doch einen Einblick in das sehr weitläufig und umfassend gewordene Gebiet der Anwendungsmöglichkeiten der Geologie.

Einige grundsätzliche Bemerkungen über die «Wirklichkeit im Rahmen der Persönlichkeit», die «Wirklichkeit im Rahmen der Theorie» und die «Wirklichkeit im Rahmen der Darstellung» geben Aufschluß über die Arbeitsweise des Geologen und enthalten für den mit der Geologie Österreichs weniger Vertrauten interessante personelle Angaben. Wertvoll ist auch der abschnittsweise, das heißt nach Sachgebieten geordnete Quellennachweis.

W. NABHOLZ

Kristallchemie und -physik mag im ersten Moment befremden. Da vor allem dem Studenten Zusammenhänge klar gemacht werden möchten, so scheint die gewissermassen zweiseitige Beleuchtung des Problems berechtigt.

In einem Anhang sind einige kristallographische Begriffe kurz erläutert und eine wertvolle Ergänzung bildet die Tabelle der Atom- und Ionenradien. Schliesslich sei noch erwähnt, dass die neueren Ergebnisse der deutschen und anglo-amerikanischen Literatur berücksichtigt worden sind. Wenn die vorliegende Einführung naturgemäss den weitschichtigen Stoff nicht erschöpfend behandeln kann und will, so findet der Studierende und jeder sonstwie an kristallchemischen oder -physikalischen Fragen Interessierte in dem gut ausgestatteten Buch eine angenehme Wegleitung und manche wertvolle Anregung.

TH. HÜGI

Struktur und Eigenschaften der Kristalle

Eine Einführung in die physikalische und chemische Kristallkunde

Von HELMUT G. F. WINKLER

258 Seiten mit 62 Abbildungen, 78 Tabellen und 1 Tafel (Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1950) (DM 16.80)

Die zur Erforschung des Feinbaues von Mineralien und kristalliner Materie erforderlichen Methoden wurden vor bald 40 Jahren entwickelt. Den allerersten Strukturbestimmungen eines BRAGG, EWALD und LAUE folgten bis auf den heutigen Tag in zahllosen Laboratorien der ganzen Erde eine Unsumme weiterer. So darf wohl gesagt werden, dass wir jetzt über die Bauprinzipien der wichtigsten Mineralien und anorganischen Verbindungen orientiert sind. In den letzten Jahren machte sich aber mehr und mehr das Verlangen nach ordnender Sichtung des Tatsachenmaterials geltend. Ein neues, aus Vorlesungen hervorgegangenes Buch möchte diesem Wunsche nachkommen. Wie der Autor selbst im Vorwort seines Buches sagt, richtet es sich in gleicher Weise an Mineralogen, Geologen, Physiker und Chemiker. Auf eine kurze Einleitung (9 Seiten) folgen die beiden Hauptteile: Kristallstruktur und Eigenschaften (163 Seiten) und Eigenschaft und Kristallstrukturen (66 Seiten).

Im ersten Teil folgt nach Darlegungen über die Bindungsarten ein Abschnitt über Kristallgitter und ihr Stoffbestand, wobei, ausgehend von Kristallstrukturen, Eigenschaften der Kristalle besprochen werden. Den isometrischen Gittern werden die anisometrischen gegenübergestellt und letztere wie folgt unterteilt: schichtenartige Gitter, deutliche Schichtengitter, kettenartige Gitter und deutliche Kettengitter. Da P. NIGGLI bereits 1941 in seinem Lehrbuch der Mineralogie und Kristallchemie eine Einteilung der molekularen und kristallinen Konfigurationen gegeben hat, in der gerade auch die Unterscheidung zwischen Netz- und Kettenstrukturen besonders hervorgehoben wird, überrascht die hier vorgenommene Einordnung von Mineralien, wie Rutil, Quarz und anderen bei den kettenartigen Gittern nicht.

Im zweiten Teil dagegen wird jeweils von einer bestimmten Eigenschaft, wie Wärmeleitung, Kompressibilität, thermische Ausdehnung, optische Eigenschaften, Härte und Spaltbarkeit ausgehend gezeigt, wie sich diese bei verschiedenen Kristallstrukturen äussern. Die Wiedergabe dieser zwei Querschnitte durch die Gebiete der

Chemismus und Konstitution

I. Teil

Grundlagen und einige Anwendungen der chemischen Elektronentheorie

Von BERND EISTERT

387 Seiten, 14 Abbildungen und 95 Tabellen (Verlag Ferdinand Enke, Stuttgart 1948) (Fr. 47.55).

Wer im neuen Buche EISTERTS etwas seiner vor 10 Jahren erschienenen Monographie «Mesomerie und Tautomerie» Ähnliches erwarten sollte, nämlich eine kurze Auseinandersetzung mit den aktuellen Ideen über Chemismus und Konstitution, wird eine Enttäuschung erleben. Schon der Umfang des Buches, es ist der erste Teil mit beinahe 400 Seiten erschienen, zeigt, daß hier etwas ganz anderes beabsichtigt wurde. Was hier vorliegt, ist eine zusammenfassende Darstellung der Arbeiten, die inzwischen auf diesem Gebiete der Chemie erschienen sind.

Die ersten sieben Kapitel befassen sich mit dem Thema «Struktur und physikalische Eigenschaften». Es wird die Elektronentheorie der Struktur entwickelt und ihre Brauchbarkeit an Hand der Ergebnisse speziell optischer und elektrischer Untersuchungen erwiesen. Im elften Kapitel wird auf unsere Kenntnis der zwischenmolekularen Kräfte und Molekelverbindungen eingetreten, während in den restlichen vier Kapiteln ein Teil des Themas «Struktur und Reaktion» behandelt wird. Weitere Anwendungen der Elektronentheorie sollen in einem zweiten Bande folgen.

Die quantenmechanischen Modellberechnungen werden in ihren Grundzügen skizziert und in ihrer Anwendung auf verschiedene Probleme diskutiert. Daneben wird ein Kapitel der Diskussion der «klassischen» Effekte (*F*- und *A*-Effekt) gewidmet, jedoch ohne daß auf einen engeren Kontakt zwischen den beiden Betrachtungsweisen Gewicht gelegt würde. Wenig zum Ausdruck kommt die Kritik, die während der letzten Jahre an den speziellen Formulierungen der chemischen Elektronentheorie geübt worden ist.

Dem Buch ist eine große Zahl von Berichtigungen und Nachträgen angehängt, was bei der Lektüre als störend empfunden werden kann. Es muß jedoch besonders betont werden, daß mit dem Erscheinen dieses Buches in der deutschsprachigen chemischen Literatur eine fühlbare Lücke ausgefüllt worden ist. H. SCHENKEL

Kartothek der Thiazolverbindungen

Von BERNHARD PRIJS.
1350 Seiten in 4 Bänden.
(Verlag S. Karger AG., Basel 1951).
(Fr. 166.40).

La chimie du cycle thiazolique a subi un tel développement depuis la parution du dernier complément de BEILSTEIN que le besoin devenait de plus en plus urgent de grouper dans un ouvrage particulier, l'ensemble de nos connaissances actuelles sur cet important domaine de la chimie organique.

Cet ouvrage vient de sortir des presses de la Maison d'Édition S. Karger de Bâle. Il est présenté par M. BERNHARD PRIJS, disciple du professeur H. ERLÉNMEYER, bien connu pour ses travaux sur les dérivés du thiazole.

L'inspiration qui a guidé M. PRIJS a été particulièrement heureuse lorsqu'il a choisi la forme d'une cartothèque pour présenter son ouvrage. Il est en effet dès lors possible, en une seule opération, et sans autre effort que d'ouvrir l'un des quatre tomes de la collection, de trouver réunie la totalité des renseignements physiques et chimiques existant sur l'une quelconque des quelque 2100 molécules qui contiennent le cycle thiazole (exception faite des dérivés hydrogénés et annelés du cycle et des thiacyanines). Jusqu'à présent il fallait, pour ce faire, commencer par consulter l'ouvrage de BEILSTEIN, puis les trente trois index annuels d'une revue d'extraits pour les années postérieures, se reporter ensuite aux extraits mentionnés, les lire, se référer le plus souvent aux articles originaux pour compléter les renseignements déjà recueillis, grouper enfin ces renseignements et... recommencer dès qu'il était question d'un nouveau dérivé. Tout ce travail fastidieux, M. PRIJS l'a fait pour nous. Il a fait plus encore puisqu'à la fin de son ouvrage on trouve, outre la classique table des composés cités, une table des principales réactions décrites, classées selon leur type, et une table des propriétés particulières (surtout physiques et physico-chimiques) qui relève également certains composés spéciaux. Contrairement aux ouvrages qui pourront paraître sur la Chimie des Thiazoles, celui-ci gardera toute sa valeur d'actualité grâce à cette présentation qui permet, tous les ans, d'intercaler en bonne place un certain nombre de feuillets complémentaires. La formule est à retenir et à conseiller pour d'autres séries analogues.

Pour chaque composé l'auteur décrit ses principaux modes de préparation, ses constantes physiques essentielles, suffisantes pour la caractérisation, il indique les principales mesures physico-chimiques effectuées, il résume les propriétés chimiques connues, sous forme de réactions schématisées, décrit les sels où l'atome d'azote est susceptible d'être engagé et, le cas échéant, cite les utilisations proposées pour les différents dérivés. Tous ces renseignements sont soigneusement présentés et faciles à lire.

Le numérotage du cycle thiazolique employé par Monsieur PRIJS dans cette cartothèque est celui qu'utilisent les principales revues d'extraits. Bien que conforme à certaines propositions de travail de la Commission de Nomenclature de Chimie organique de l'Union Internationale de Chimie, ce numérotage a le désavantage de n'être pas logique. Nous lui préférons personnellement celui qu'a proposé V. GRIGNARD dans l'esprit des conventions internationales de Genève et de Liège (V. GRIGNARD, *Traité de Chimie Organique*, tome I, p. 1093, Masson éd., 1935) selon lequel l'hétéro-atome principal des azoles (oxa-, thia-, sélénazole, ...) est l'atome d'azote,

qui porte de ce fait le numéro 1. Cette délicate question de nomenclature et de numérotage faisant l'objet de travaux de la part de la Commission citée, nous ne voulons pas préjuger des conventions internationales que nous souhaitons voir en résulter prochainement.

Qu'il appartienne à l'Industrie ou qu'il soit universitaire, tout laboratoire où l'on travaille la chimie hétérocyclique, et particulièrement celle des azoles, ne peut désormais se passer de l'auxiliaire si précieux que représente cette cartothèque des combinaisons du thiazole.

J. METZGER

Kolorimetrie und Spektralphotometrie

Eine Anleitung zur Ausführung von Absorptions-, Fluoreszenz- und Trübungsmessungen an Lösungen

Von GUSTAV KORTÜM

2., verbesserte Auflage, 236 Seiten, 97 Abbildungen
(Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1948)
(DM 16.50)

Das als Band II der Reihe: «Anleitungen für die chemische Laboratoriumspraxis» (begründet von E. ZINTL, herausgegeben von R. BRILL) erschienene Bändchen ist geschaffen worden, um demjenigen, der sich vor die Aufgabe einer Absorptions-, Fluoreszenz- oder Trübungsmessung gestellt sieht, als Führer bei der Auswahl der geeignetsten Meßmethode zu dienen. Da es sich meistens um Messungen an Lösungen handelt, wird die Beschränkung auf diese kaum empfunden werden.

Der besondere Vorzug des Büchleins liegt darin, daß sich der Verfasser konsequent an ein paar Grundsätze gehalten hat, nämlich:

1. Klarheit in Begriffsbildung und Definitionen,
2. Ausführliche Diskussion der Fehlerquellen und Abschätzung der Genauigkeit,
3. Beschränkung auf die Beschreibung der Meßprinzipien.

Die Orientierung über die Handhabung der verschiedenen Apparate bleibt der Anleitung der betreffenden Firma überlassen. Dies erlaubt eine wesentliche Konzentration des Stoffes auf das Grundsätzliche und läßt es kaum als Lücke empfinden, daß dem Verfasser zur Zeit der Drucklegung die modernen angelsächsischen Apparate anscheinend noch unzugänglich geblieben waren.

Unter diesen Gesichtspunkten werden nach einem allgemeinen einleitenden Abschnitt behandelt: Kolorimetrie, Spektralphotometrie, Fluorometrie, Nephelometrie, und zwar gesondert visuelle und lichtelektrische Methoden, dann Spektrographie. Wertvoll sind Angaben für die Zusammenstellung von Apparaturen aus überall vorhandenen Laboratoriumshilfsmitteln, mit denen oft genügende Genauigkeit erzielt werden kann.

Der letzte Abschnitt gibt noch einige geschickte den verschiedensten Gebieten entnommene Beispiele aus der Literatur, die die vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten optischer Meßmethoden überzeugend belegen.

Jedem, der sich mit Absorptions-, Fluoreszenz- oder Trübungsmessungen beschäftigt oder sich einen gründlichen Überblick über dieses Gebiet verschaffen will, sei das Büchlein warm empfohlen.

F. HIRTZIG

Introduction to Radiochemistry

By GERHART FRIEDLANDER and JOSEPH W. KENNEDY
412 pages with 54 figures
(John Wiley & Sons, Inc., New York, and Chapman & Hall, Ltd., London 1949)
(\$5.00)

Das Buch zweier erfahrener Praktiker soll den Chemiker ohne spezielle kernphysikalische Vorkenntnisse in logischer Weise mit den Problemen der Radiochemie vertraut machen. Daher ist das Hauptgewicht auf eine beschreibende Information über physikalische Begriffe und Betrachtungsweisen gelegt. Nach einer knappen historischen Einleitung folgen Kapitel über den Atomkern und seine Umwandlungsmöglichkeiten. Das Anwachsen und der Zerfall eines radioaktiven Produktes wird in quantitativer Weise behandelt, ebenso die Wechselwirkung der einzelnen Strahlungen mit der Materie. Jeder Abschnitt verweist an seinem Ende auf die Standardliteratur und ist durch eine Liste von Übungsaufgaben ergänzt. Durch die Lösung dieser Aufgaben wird jene Vertrautheit mit den Problemen erreicht, welche bei Chemikern und Physikern für die Beurteilung aller Fragen über radioaktive Prozesse unerlässlich ist. Die Probleme der chemischen Trennung radioaktiver Substanzen und Isotope führen zur Chemie von Stoffen, welche nur in kleinsten Konzentrationen vorliegen. Durch Verwendung radioaktiver Tracer-Elemente ist es gelungen, neue Substanzen zu entdecken und Austauschreaktionen zu studieren; ebenso hat die analytische Chemie dadurch ein machtvolleres Hilfsmittel erhalten.

Im Anhang des Buches sind unter Verwendung verschiedener moderner Tabellen Häufigkeit, Halbwertszeit und Zerfallsenergie der Isotope zusammengestellt. Obwohl eine solche Liste, ähnlich wie die Atomgewichtstabellen, ständig verbessert und ergänzt werden wird, ist sie dennoch für die Beantwortung vieler Fragen äußerst nützlich.

Das Werk kann jedem Chemiker oder Mediziner, der sich mit Fragen der Radiochemie zu befassen hat, bestens empfohlen werden; es ist aber auch dem Experimentalphysiker wertvoll, behandelt es doch in kurzer Zusammenfassung viele Probleme seiner engeren Forschungstätigkeit.

W. HÄLG

Biophysical Research Methods

Prepared by a group of specialists under the editorship of FRED M. UMBER, 667 pp., with many figures
(Interscience Publishers, New York and London, 1950)
(\$9.50)

Die stets wachsende Bedeutung physikalischer Methoden für die Biologie und experimentelle Medizin lassen orientierende Übersichten der modernen Möglichkeiten zu einer Notwendigkeit werden. Der Herausgeber des vorliegenden Buches beabsichtigte, Biologen und Medizinern die wesentlichen Methoden der heutigen Biophysik in kurzen Darstellungen näherzubringen. Es wird dabei das Prinzip solcher Verfahren erläutert und an Hand entsprechender Beispiele ihre Nützlichkeit für gegebene Probleme dargelegt. Eingehend werden die nötigen apparativen Einrichtungen, technischen Hilfsmittel und allgemeinen Erfordernisse erläutert. Die Verfasser unterlassen es auch nicht, auf die gegebenen Grenzen hinzuweisen.

Das Buch enthält Beiträge von DAVID R. BRIGGS über Messung des osmotischen Druckes und über Elektrophorese, von E. G. PICKELS über Zentrifugation und

von L. V. HEILBRUNN über Viskositätsmessungen. Über Temperaturbestimmungen berichten L. R. PROUTY und JAMES D. HARDY und über Kalorimetrie MAX KLEIBER. E. W. FLOSDORF behandelt Trocknungsprozesse durch Einfrieren und das sogenannte QUICK-Freezing. Ein Kapitel über Ultraschall stammt von E. C. GREGG JR. Zur Verwendung von Spezialmikroskopen und über das Elektronenmikroskop äußern sich O. W. RICHARDS bzw. J. HILLIER. H. F. BLUM steuerte einen Beitrag über Absorptionsspektren und J. W. GOWEN einen solchen über Röntgenstrahlen und Röntgenbestrahlung bei. Das Gebiet der bioelektrischen Messungen beleuchtet H. J. CURTIS, während L. H. GRAY die Elektronen, Neutronen- und α -Teilchen behandelt. F. M. UMBER referiert über stabile, A. F. VOIGT über radioaktive Markierungselemente. Das Buch ist wie die meisten amerikanischen Bücher auf gutes Papier gedruckt und mit solidem Einband versehen. Es wird vielen recht nützlich sein, zumal auch allen Beiträgen Literaturhinweise folgen.

K. BERNHARD

Experimental Immunochemistry

By ELVIN A. KABAT and MANFRED M. MAYER
567 pages
(Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1948)

Die Immunitätsforschung ist heute wenig älter als ein halbes Jahrhundert; als exakte Wissenschaft besteht sie erst seit zwei Jahrzehnten. Durch LANDSTEINERS Untersuchungen mit künstlichen (chemospezifischen) Antigenen und die Erforschung der Spezifität reiner Pneumokokken-Polysaccharide (AVERY, GOEBEL) wurde in den zwanziger Jahren erkannt, daß die Immunreaktionen chemische Vorgänge zwischen grundsätzlich chemisch definierbaren Gruppen an Antigen- und Antikörper-Molekülen sind. Seither kam der Terminus «Immunochemie» ernstlich in Gebrauch. MICHAEL HEIDELBERGER hat dann seit 1939 «unter Zugrundelegung der rigorosen Kriterien der analytischen Chemie quantitative Mikromethoden zur Bestimmung vieler Antigene und Antikörper (Komplement usw.) in absoluten Meßgrößen eingeführt». Zwei prominente und langjährige Mitarbeiter M. HEIDELBERGERS haben es unternommen, die in den letzten zwanzig Jahren erarbeiteten quantitativen Methoden und die entwickelten Geräte und Apparate im vorliegenden Buch mit großer Sorgfalt und Vollständigkeit zu beschreiben. Das Werk ist in 4 Abschnitte gegliedert: 1. Immunologische und immunochemische Methodik, 2. Anwendung und Handhabung quantitativer immunochemischer Methoden, 3. Allgemeine chemische und physikalische Methoden und spezielle immunochemische Verfahren, und 4. Präparate (hauptsächlich Reindarstellung ausgewählter Protein- und Kohlehydratantigene, Antikörper u. a.). Der klaren Gliederung entspricht der Stil der Darstellung, die bei sehr gutem Druck durch 86 zum Teil große Übersichtstafeln und 88 Abbildungen ergänzt wird. Über tausend einschlägige Literaturstellen, Bücher oder Übersichtsberichte sind zitiert und verarbeitet. Man kann mit Nachdruck wünschen, daß dieses kompetente Werk Eingang in jedes immunologische und mikrobiologische Laboratorium der Forschung und Praxis finden möge, wo vielfach noch ältere relative und teilweise überholte Methoden angewandt werden. HEIDELBERGER sagt (1946): «Zweifelloso, viele von denen, welche sie (die älteren Methoden) früher nützlich und angenehm fanden, denken an sie immer noch mit Heimweh». Ihnen wird es hier leicht gemacht, sich auf die modernen quantitativen Methoden umzustellen.

O. WESTPHAL

Apples and Apple Products

By R. M. SMOCK and A. M. NEUBERT

486 pages, 87 figures, and 51 tables

(Interscience Publishers, Inc., New York and London
1950) (\$7.80)

Dieses Werk ist als 2. Band einer von Z. I. KERTESZ herausgegebenen Serie von Monographien über Chemie, Physiologie und Technologie von Lebensmitteln erschienen [1. Band "Bananas", siehe Exper. 6, 394 (1950)]. Die Verfasser bezeichnen ihr Werk als Lehr- und Handbuch der Chemie und Physiologie der Apfelfrucht, wobei weniger die Produktion als die Verhältnisse nach der Ernte berücksichtigt werden. Da der Apfel eine der wichtigsten und wohl auch der am meisten verbreiteten Baumfrüchte ist, erklärt sich der verhältnismäßig große Umfang des Buches.

Nach einem historischen Überblick und einer Übersicht über die Apfelsorten sowie einem kurzen Kapitel über den Einfluß von Umwelts- und Kulturfaktoren auf die Zusammensetzung und Physiologie der Äpfel kommen die beiden, fast die Hälfte des Buches füllenden Kapitel über chemische Veränderungen und Physiologie der Frucht am Baum und nach der Ernte. Wie mannigfaltig die chemischen Probleme bei einer scheinbar so

einfachen Frucht liegen, zeigt die graphische Darstellung der verschiedenen Stoffgruppen und der einzelnen chemisch erfaßbaren Bestandteile; es sind deren fast 60. Hier treffen Lebensmittelchemiker und Ernährungsphysiologen eine Fundgrube des Wissens an. Die Angaben über Veränderungen beim Lagern unter Berücksichtigung verschiedener Temperaturen und des Einflusses von Kohlensäure und Äthylen sind auch vom wirtschaftlichen Standpunkte aus von großer Bedeutung. Begrüßenswert sind die Hinweise auf giftige Spritzmittelreste, mit denen wir auch in Europa in vermehrtem Maße rechnen müssen. Sehr eingehend wird die Lagerhaltung besprochen, wobei die möglichen Schäden bildlich dargestellt sind.

Der Technologie ist die zweite Hälfte des Buches reserviert. Das Studium dieses Teiles kann den Vertretern von Produktion und Handel nur empfohlen werden, besonders im Hinblick auf Steigerung der Qualität und Vermeidung von Verlusten. Im Anhang finden sich dann noch Tabellen mit Produktionsangaben für Amerika und europäische Länder. Eine sehr reichhaltige Dokumentation, die vielen Abbildungen und Tabellen stemmeln das Buch zu einem Standardwerk für weiteste Kreise der Wissenschaft und landwirtschaftlichen Industrie. Besonderen Nutzen werden Studierende der agromischen Wissenschaften aus diesem Buche ziehen.

M. STAUB

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

PRAEMIA

U. S. A.

The Institute for the Unity of Science is offering a prize of \$500 for the best essay on the theme "Mathematical Logic as a Tool of Analysis: Its Uses and Achievements in the Sciences and Philosophy". Two additional prizes of \$200 each will be given for the next best two essays. It is an International Contest and is open to everyone. Essays must not exceed 25,000 words. They may be written in English, French or German and must be submitted before January 1, 1953. Further information can be obtained from the Institute for the Unity of Science, American Academy of Arts and Sciences, 28 Newbury Street, Boston 16, Massachusetts.

SOCIETATES

(BELGIQUE)

M. le professeur CL. LIÉBECQ annonce la création de la *Société belge de Biochimie* qui a tenu sa première assemblée générale à Bruxelles le 12 janvier 1952. M. le professeur M. FLORKIN en a été nommé président, M. le professeur LIÉBECQ secrétaire. (Le bureau de la société se trouve: 17, place Delcour, Liège, Belgique.)

Congressus

CANADA

XIXth International Physiological Congress

Montreal, September 1st to 4th, 1953

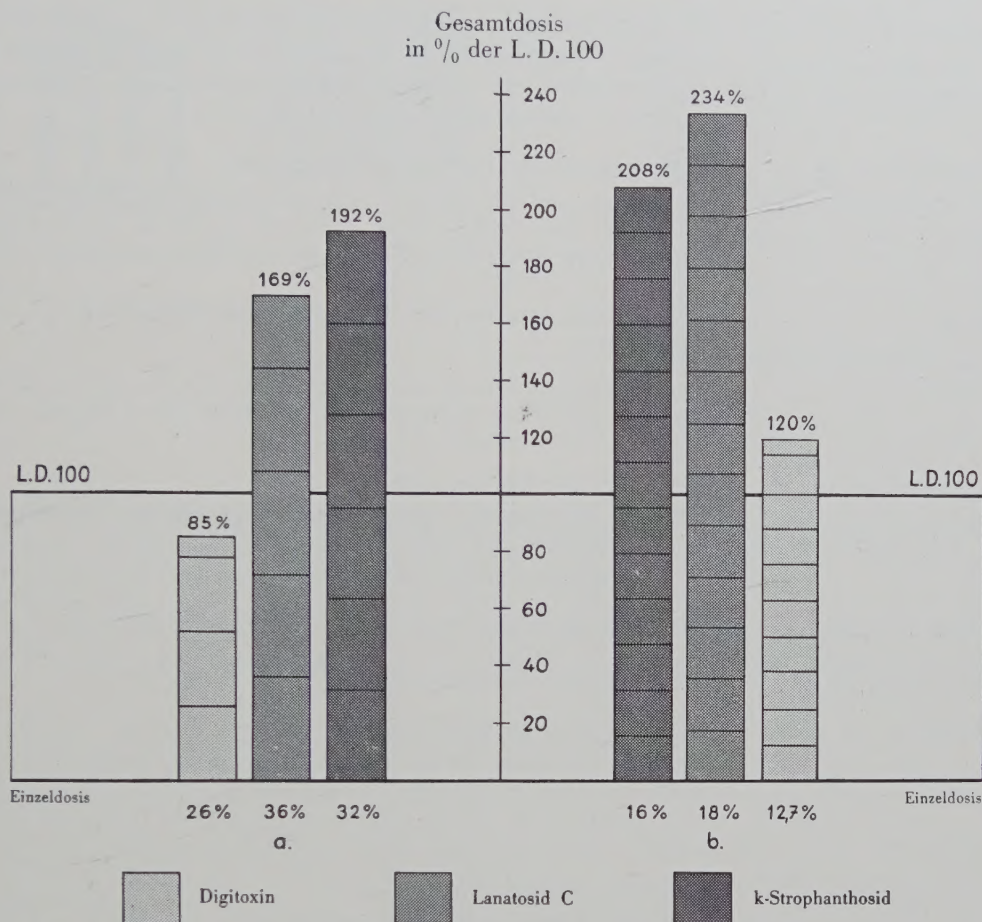
The Department of Physiology at MCGILL University, Montreal, Canada, communicates through the Chairman of the Local Organizing Committee, F. C. MACINTOSH, that it is proposed to hold the nineteenth International Physiological Congress, under the Presidency of Professor C. H. BEST, in Montreal, from August 31st to September 4th, 1953.

Corrigendum

E. SCHILLER, *Die Wirkung von Cyren B auf die Entwicklung silikotischer Granulome*, Exper. 7, fasc. 12, p. 464 (1951).

Der Autor teilt uns mit, dass auf Seite 464, rechte Kolonne, letzter Absatz, 9. Zeile von unten, an Stelle des Wortes Progesteron Östradiol zu lesen ist.

Mit den pharmakologischen Untersuchungen in den Laboratorien der Sandoz A.G. wurde ein wesentlicher Beitrag zur Differenzierung der verschiedenen herzwirksamen Glycoside geleistet.



Relative toxische Kumulation herzwirksamer Glycoside bei chronischer Verabreichung am Ganztier. Es wird diejenige Gesamtmenge eines herzwirksamen Glycosides, welche zum Tod des Tieres führt, verglichen mit der einmaligen letalen Infusionsdosis nach *Hatcher*

- a) bei Verabreichung von grösseren Einzeldosen,
b) bei Verabreichung von kleineren Einzeldosen.

Die Versuche demonstrieren die geringe relative toxische Kumulation von Lanatosid C und k-Strophanthosid.

*Suter E., Rothlin E. und Bircher R.: „Glykosidwirkung auf Elektrokardiogramm und Myokard“.
Helv. Physiol. Acta 7, 1, 1949*

SANDOZ A.G. - BASEL



NEUERSCHEINUNGEN

Januar—April 1952

GYSEL, H.

Leiter der mikroanalytischen
Laboratorien der Ciba AG.,
Basel

HERRMANN, H.

Technische Hochschule Braun-
schweig

JAKOB, J.

Professor an der Eidg. Techn.
Hochschule Zürich

KUHLMANN, K.

vorm. Professor an der Eidg.
Techn. Hochschule in Zürich

LOCHER-ERNST, L.

Professor am Technikum des
Kts. Zürich in Winterthur

NIGGLI, P.

Professor an der Eidg. Techn.
Hochschule in Zürich

NOWACKI, W.

Professor an der Universität
Bern

SPEISER, A.

Professor an der Universität
Basel

THOMMEN, E.

Genf

ZIEGLER, H.

Professor an der Eidg. Techn.
Hochschule in Zürich

Prozenttabellen organischer Verbindungen – Tables of Percentage Composition of Organic Compounds – Tables des compositions centésimales des combinaisons organiques
662 Seiten. In Kunstleder gebunden Fr. 125.–.

Übungen zur projektierten Geometrie

(Lehrbücher und Monographien aus dem Gebiet der exakten Wissenschaften – Mathematische Reihe, Band 18) 172 Seiten mit 90 Figuren, 4 zweifarbigen Raumbildern und 2 rotgrünen Betrachtungsbrillen. Ganzleinen Fr. 17.–, broschiert Fr. 14.–.

Chemische Analyse der Gesteine und silikatischen Mineralien

(Lehrbücher und Monographien aus dem Gebiet der exakten Wissenschaften – Chemische Reihe, Band 7) 180 Seiten mit 10 Figuren. Ganzleinen Fr. 18.70, broschiert Fr. 15.60.

Theoretische Elektrotechnik

Band 3: Grundzüge der Theorie elektrischer Maschinen

(Lehr- und Handbücher der Ingenieurwissenschaften – Band 13) 546 Seiten mit 328 Figuren. Ganzleinen Fr. 74.90, broschiert Fr. 68.65.

Einführung in die freie Geometrie ebener Kurven

(Elemente der Mathematik vom höhern Standpunkt aus – Band 1) 88 Seiten mit 167 Figuren. Broschiert Fr. 12.50.

Gesteine und Minerallagerstätten

Band 2: Exogene Gesteine und Minerallagerstätten

(Lehrbücher und Monographien aus dem Gebiet der exakten Wissenschaften – Mineralogisch-geotechnische Reihe, Band 4) 554 Seiten mit 181 Figuren. Ganzleinen Fr. 49.40, broschiert Fr. 45.25.

Fouriersynthese von Kristallen

und ihre Anwendung in der Chemie

(Lehrbücher und Monographien aus dem Gebiet der exakten Wissenschaften – Chemische Reihe, Band 6) 252 Seiten mit 120 Figuren. Ganzleinen Fr. 34.40, broschiert Fr. 30.15.

Elemente der Philosophie und Mathematik

(Sammlung «Wissenschaft und Kultur» – Band 5) Ganzleinen Fr. 11.45.

Taschenatlas der Schweizer Flora

326 Seiten mit über 3050 schwarzweißen Zeichnungen. Ganzleinen Fr. 13.50.

Mechanik, Band III: Dynamik der Systeme

(Lehr- und Handbücher der Ingenieurwissenschaften – Band 7) 396 Seiten mit 191 Figuren. Ganzleinen Fr. 46.80, broschiert Fr. 42.65.

Verlangen Sie bitte Prospekte der Sie interessierenden Werke

Zu beziehen durch jede Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL Schweiz – Suisse – Switzerland